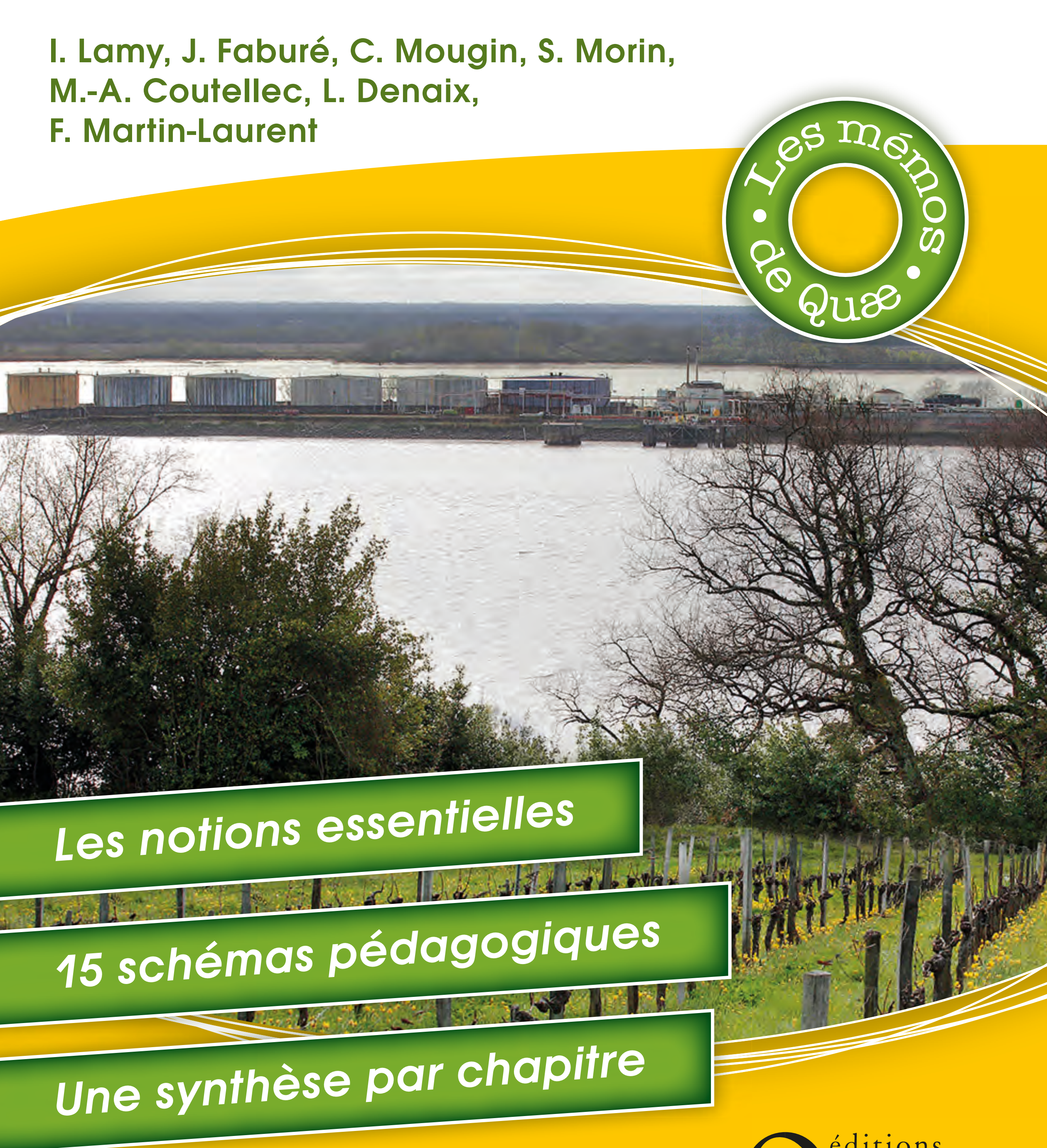
# L'ÉCOTOXICOLOGIE EN QUESTIONS

I. Lamy, J. Faburé, C. Mougin, S. Morin, M.-A. Coutellec, L. Denaix, F. Martin-Laurent

Les mémos de Quæ



Les notions essentielles

15 schémas pédagogiques

Une synthèse par chapitre

éditions Quæ

# L'ÉCOTOXICOLOGIE EN QUESTIONS

## Dans la même collection

*Le bien-être des animaux d'élevage — Comprendre le bien-être animal*
Luc Mounier (coord.), 2021, 72 p.

*Le bien-être des animaux d'élevage — Évaluer le bien-être animal*
Luc Mounier (coord.), 2021, 72 p.

*Le bien-être des animaux d'élevage — Améliorer le bien-être animal*
Luc Mounier (coord.), 2022, 72 p.

*Découvrir les invertébrés vivant à la surface du sol*
Apolline Auclerc, 2021, 52 p.

*Les végétaux — Évolution, développement et reproduction*
Lydie Suty, 2014, 64 p.

*Les végétaux — Les relations avec leur environnement*
Lydie Suty, 2014, 56 p.

*Les végétaux — Des symbioses pour mieux vivre*
Lydie Suty, 2015, 56 p.

Cet ouvrage a bénéficié du soutien financier du réseau ECOTOX d'INRAE, le réseau d'écotoxicologie terrestre et aquatique.




Éditions Quæ
RD 10
78026 Versailles Cedex, France
www.quae.com
www.quae-open.com


ISBN (papier) : 978-2-7592-3454-7
ISBN (pdf) : 978-2-7592-3455-4
ISBN (ePub) : 978-2-7592-3456-1
ISSN : 2779-5012

# L'ÉCOTOXICOLOGIE EN QUESTIONS

I. Lamy, J. Faburé, C. Mougin, S. Morin,
M.-A. Coutellec, L. Denaix,
F. Martin-Laurent



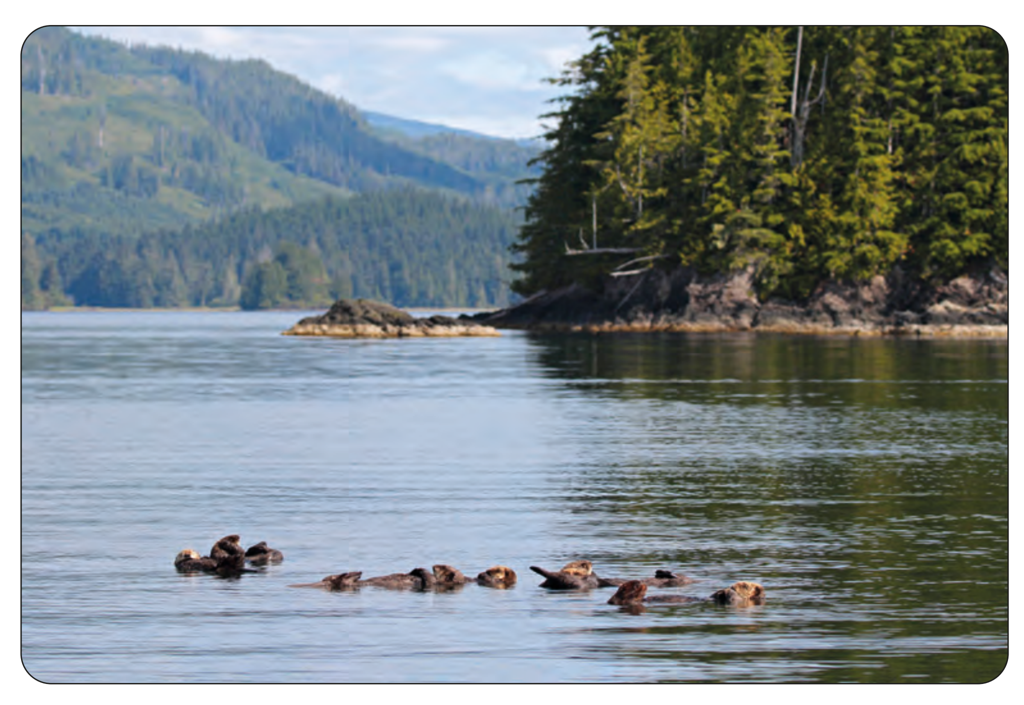
# INTRODUCTION

L'homme utilise depuis toujours des produits qui se sont diversifiés exponentiellement avec l'industrialisation et qui, pour certains, se sont révélés contaminants. C'est après la Seconde Guerre mondiale, alors que la chimie était en pleine expansion, que l'ouvrage *Chemistry… key to better living* (Société américaine de chimie, 1951) a associé la notion de progrès à l'essor de cette science. Mais les impacts sur la faune et les humains des produits chimiques couramment utilisés ne tardent pas à être révélés. Leur dénonciation dans le livre *Printemps silencieux* (*Silent Spring*, 1962) de Rachel Carson a nourri les préoccupations environnementales de la société, posant par là même les bases d'une nouvelle discipline scientifique, l'écotoxicologie. Cette prise de conscience a atteint son paroxysme avec la définition de l'Anthropocène*[1] : l'ère où l'homme, par ses activités, est devenu la force principale agissant sur la biosphère. On s'aperçoit aujourd'hui que les dérèglements environnementaux impactent le mental des populations, notamment des plus jeunes. La notion d'éco-anxiété, relativement récente (Desbiolles, 2020), fait l'objet d'un intérêt croissant de la part des mondes académiques et médicaux. Elle traduit un sentiment de préoccupation, d'inquiétude, d'anxiété et d'angoisse, provoqué par des menaces qui pèsent sur l'environnement.

Dans ce contexte, quel peut être l'apport de l'écotoxicologie ? Une meilleure connaissance des problèmes liés aux contaminants, conduisant à des mesures surprotectrices ? Ou une meilleure approche des mécanismes et processus mis en jeu lors de l'introduction de nouvelles substances dans un milieu pour mieux les gérer ? Quelles sont les grandes approches actuelles en écotoxicologie pour aborder ces problèmes environnementaux ? Les pages qui suivent visent à apporter des éléments de réponse à ces questions.

Cet ouvrage aborde l'écotoxicologie par le biais de questions ouvertes, basées sur celles que peuvent se poser les lecteurs curieux de mieux connaître cette discipline ou, plus généralement, soucieux des problématiques environnementales. Au travers des réponses à ces questions, les grandes notions d'écotoxicologie sont traitées de façon intégrée. Le chapitre 1 aborde l'origine de l'écotoxicologie, et en définit les contours et les principaux concepts associés. Le chapitre 2 s'intéresse aux ruptures ayant transformé les approches traditionnelles d'écotoxicologie en une science plus holistique visant à intégrer la complexité des conditions réelles. Le chapitre 3 s'attache à la complexité des processus et mécanismes écotoxicologiques. Le chapitre 4 approfondit les conséquences de cette complexité en se focalisant sur les difficultés associées à la démonstration de relations causales entre présence et écotoxicité des contaminants, et propose un aperçu des stratégies permettant de traiter la question. Le chapitre 5 passe en revue les différences entre écotoxicologie terrestre et aquatique, depuis les concepts jusqu'à la mise en œuvre des tests. Enfin, le chapitre 6 élargit le champ d'application de la science écotoxicologique à sa portée concrète pour la société. Un chapitre de conclusion dresse une liste des nouveaux défis et des nouvelles opportunités pour l'écotoxicologie.

1. Les termes signalés par un astérisque renvoient au glossaire en fin d'ouvrage.



**Loutres de mer (*Enhydra lutris*) – île de Vancouver (Colombie-Britannique, Canada)**.
La loutre est une espèce dite « parapluie » selon la définition donnée par Ramade (2002), c'est-à-dire une espèce « dont le domaine vital est assez large pour que sa protection assure celle des autres espèces appartenant à la même communauté ». Les loutres vivent dans les rivières, marais, grands lacs ou sur les côtes maritimes, pourvu que cet habitat soit riche en poissons et que l'eau soit saine. La pollution et l'urbanisation détériorent leurs habitats aquatiques. Ce sont les causes principales de la disparition de la loutre dans ce fjord de l'île de Vancouver, à la suite de l'implantation d'une usine de pâte à papier. L'arrêt de l'usine a vu le retour des loutres de mer.

## *Références*

American Chemical Society, 1951. *Chemistry… key to better living: A record of chemical progress during the first 75 years of the American Chemical Society*, ACS, Washington, 244 p.

Carson R., *Printemps silencieux*, 1963. Paris, Plon, 283 p. (la 1re édition de cet ouvrage est parue en anglais en 1962, sous le titre *Silent Spring*).

Desbiolles A., 2020. *L'éco-anxiété. Vivre sereinement dans un monde abîmé*, Paris, Fayard, 233 p.

Ramade F., 2002. *Éléments d'écologie – Écologie appliquée*, 6e édition, Paris, Dunod, 864 p. (Coll. Sciences sup).

# SOMMAIRE

# 1. Qu'est-ce que l'écotoxicologie ?

L'écotoxicologie est la science qui étudie le devenir et les effets des composés toxiques dans les écosystèmes. Cette discipline est récente, mais avant qu'elle soit définie comme telle et désignée sous cette appellation, on en faisait déjà sans le savoir, dès lors qu'on étudiait le comportement des composés toxiques dans l'environnement. Le terme d'écotoxicologie est apparu dans les années 1970 (Vasseur, 2019 ; Vasseur *et al.*, 2021), lorsqu'un article de Jean-Michel Jouany (1971) a postulé que « L'étude de l'influence des nuisances sur les relations individu-environnement pourrait être simplement qualifiée d'écotoxicologie ». À la même période, René Truhaut (1977) considérait l'écotoxicologie comme une branche de la toxicologie. Cette approche centrée sur les effets ne prenait toutefois pas en compte le devenir des contaminants dans l'environnement. Dans le présent ouvrage, nous nous baserons plutôt sur une définition plus récente et plus intégrative de l'écotoxicologie (Ramade, 1992), qui englobe « les modalités de contamination des écosystèmes par les polluants chimiques (composés inorganiques ou organiques, radioéléments…), leur circulation et leurs transformations biogéochimiques dans les écosystèmes, leurs effets sur les communautés, et les perturbations qu'ils peuvent induire sur les processus écologiques fondamentaux ».

Les termes « impact » et « effet » sont souvent utilisés de façon indifférenciée, alors qu'ils ont des sens distincts. L'effet se réfère au résultat générique d'une exposition à une substance, quelle que soit la cible. L'impact, lui, est associé aux cibles, organismes vivants ou composantes du milieu naturel. Il désigne l'ensemble des effets liés à une substance, en prenant en compte la sensibilité des cibles aux effets. Contrairement à l'effet, l'impact n'indique pas une conséquence, mais révèle comment un phénomène affecte un état par rapport à un état de référence. On notera que les deux termes peuvent avoir une connotation positive ou négative.

## 1.1. QUELQUES QUESTIONS CLÉS POSÉES PAR L'ÉCOTOXICOLOGIE À DIFFÉRENTES DISCIPLINES

Pour l'acquisition de connaissances et le développement de méthodes, l'écotoxicologie fait appel à différentes disciplines complémentaires, à l'interface desquelles on la situe (**figure 1**).

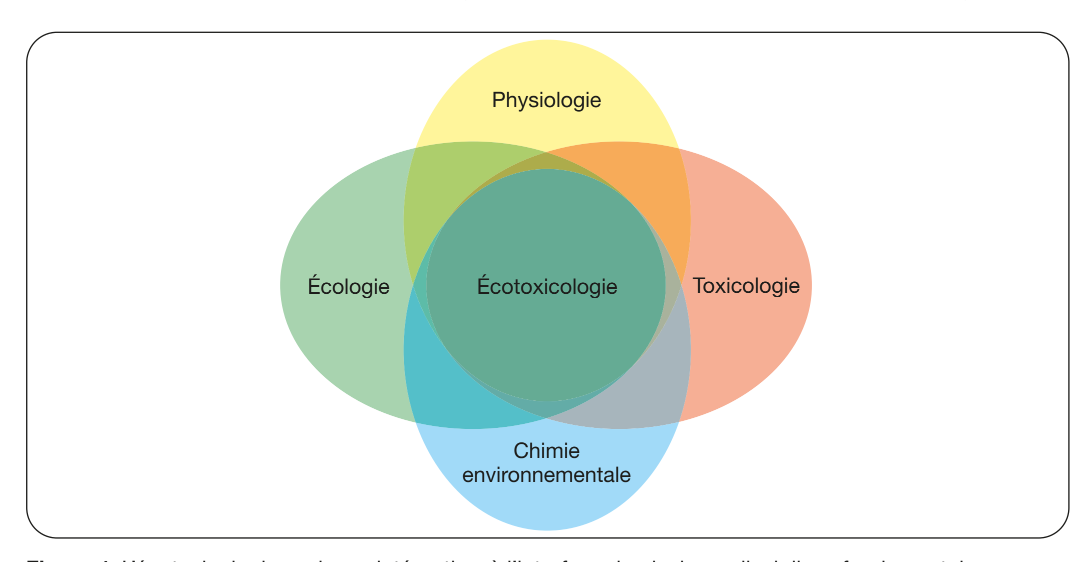



**Figure 1**. L'écotoxicologie : science intégrative, à l'interface de plusieurs disciplines fondamentales.

La chimie environnementale s'intéresse à la spéciation* des contaminants — c'est-à-dire aux différentes formes sous lesquelles ils se trouvent — et évalue leur transport dans l'environnement, leur transfert dans les structures biologiques et la transformation des substances *via* l'exposition*. Elle s'intéresse également à la compréhension des relations entre structure chimique et activité biologique au travers de modèles mathématiques (modèles (Q)SAR*, relation (quantitative) structure-activité).

La toxicologie et la physiologie permettent d'évaluer les effets et les modes d'action des substances toxiques, leur bioaccumulation* et biotransformation.

L'écologie est la science des interactions que développent et entretiennent les organismes entre eux et avec leur environnement. Elle étudie en particulier la structure et la dynamique des populations*, des communautés* ou des réseaux trophiques*, les fonctions écologiques* et le fonctionnement des écosystèmes. Aujourd'hui, dans le contexte de l'Anthropocène, elle se met au service d'enjeux appliqués tels que la conservation de la biodiversité, les services écosystémiques*, et, logiquement, l'impact des pollutions sur les écosystèmes. Les outils et méthodes développés dans cette discipline apportent le réalisme écologique indispensable aux études écotoxicologiques.

L'écotoxicologie extrapole les conséquences des processus et mécanismes identifiés aux niveaux moléculaire, cellulaire et de l'organisme à des niveaux d'organisation biologique supérieurs : population, communauté, voire écosystème.

Enfin, il est intéressant de noter ici que si la modélisation est à la fois une composante inhérente à ces différentes disciplines (à des degrés variables), elle fait également l'objet de développements propres à l'écotoxicologie. Ainsi, la prédiction du transfert des contaminants dans l'environnement (chimie de l'environnement) peut être articulée avec les sorties de modèles établissant le lien entre concentration d'exposition et concentration au sein d'un organisme (modèles toxicocinétiques, TK), ainsi que le lien entre la concentration du contaminant dans l'organisme et sa toxicité (modèles toxicodynamiques, TD). La modélisation permet également l'estimation de paramètres clés utilisés en toxicologie et en écotoxicologie, comme les CL50* ou CE50* et NOEC*.

## 1.2. POLLUTION, CONTAMINATION : DE QUOI PARLE-T-ON ?

Il existe un flou dans la terminologie sur la distinction entre pollution et contamination. Concernant les substances chimiques, on définit la contamination comme l'état du milieu dans lequel la concentration de la substance est supérieure aux concentrations naturelles attendues, c'est-à-dire au bruit de fond géochimique pour les éléments traces* (Adriano, 2001) et les molécules naturelles, ou à des concentrations nulles pour les substances de synthèse.

Le terme de pollution est généralement employé à partir du moment où la substance produit des effets délétères sur une cible biologique, quelle qu'elle soit. Toutefois, dans le cas particulier des substances radioactives, la pollution est définie comme l'introduction de radioéléments dans l'environnement, alors que la contamination se réfère à des niveaux indésirables de dépôt dans le milieu ou de présence des substances dans les organismes (IRSN, 2021).

Les polluants, naturels ou d'origine humaine, peuvent être de divers types. On les classe ainsi en polluants chimiques, physiques et biologiques. Les polluants chimiques comprennent notamment les éléments traces, les pesticides, les produits de soin et d'hygiène (médicaments, cosmétiques), les hydrocarbures… Parmi les polluants physiques, on considère les rayonnements émis par les radionucléides, mais aussi la lumière artificielle (notamment nocturne), le bruit, la chaleur. Enfin, les polluants biologiques incluent des substances telles que des toxines (biomolécules toxiques produites par des organismes), ainsi que des organismes pathogènes et parasites. En parallèle à la classification basée sur leur nature ou composition, une autre catégorie récemment apparue est celle des polluants dits « émergents ». Ces polluants ne

sont pas forcément nouveaux, mais leurs effets sont mal ou pas connus et, de fait, posent des problèmes inédits : on y retrouve notamment les microplastiques et les nanomatériaux.

## 1.3. LES BASES DE L'ÉCOTOXICOLOGIE TRADITIONNELLE

L'écotoxicologie s'est développée en lien avec l'essor et la diversification des produits manufacturés, ainsi que l'intensification de la production et de l'usage des produits chimiques depuis la Seconde Guerre mondiale. La dispersion de ces substances dans les milieux naturels a conduit à une contamination aujourd'hui globale de l'environnement : sols, milieux aquatiques, air. La présence de ces contaminants dans l'environnement résulte aussi bien d'usages directs (protection des cultures, des récoltes et des infrastructures) que d'effets non intentionnels (usages domestiques, sous-produits de l'industrie, effluents…). La contamination de l'environnement n'est pas une question récente, puisque, par exemple, des concentrations élevées de plomb dans les sols ont pu être datées de l'époque romaine. Cependant, depuis le début de l'Anthropocène, la pression de pollution sur les milieux naturels résultant de l'accroissement des usages et de la diversification des substances constitue un problème environnemental majeur : elle est incriminée comme facteur du déclin de la biodiversité et du dysfonctionnement des écosystèmes ainsi que pour ses conséquences sur la santé humaine.

De façon traditionnelle, pour une substance considérée comme un poison, l'écotoxicologie vise à estimer les valeurs de paramètres toxicologiques permettant de définir des seuils de létalité dans le but d'évaluer les nuisances et de protéger l'environnement. À l'origine marquée par la toxicologie, l'hypothèse écotoxicologique fondamentale est celle d'une relation simple (positive et monotone*) entre dose de contaminant et réponse à l'échelle de l'organisme (« C'est la dose qui fait le poison », selon la formule célèbre du médecin alchimiste Paracelse en 1538). Il faut d'ores et déjà noter que la notion de réponse est en elle-même assez floue, car elle dépend du trait biologique suivi. Les traits* d'intérêt sont typiquement choisis en fonction des connaissances toxicologiques disponibles et mesurés dans un cadre expérimental contrôlé où des organismes sont exposés à la substance d'intérêt. Les biotests sont utilisés dans le cadre réglementaire pour inférer des valeurs seuils de toxicité servant ensuite de référence pour application *in situ** (p. ex. concentration en dessous de laquelle on n'observe aucune modification du trait mesuré, **figure 2**). On pourra noter ici une caractéristique à première vue contre-intuitive de ces paramètres de toxicité, car ce sont bien les valeurs les plus petites, c'est-à-dire les concentrations (CL50 ou CE50) les plus faibles, qui sont indicatrices d'une plus grande toxicité et non l'inverse.

Les tests de toxicité aiguë* sont basés sur la mortalité des organismes, ou sur leur immobilité quand l'état de mort ne peut être établi sans ambiguïté. Ces biotests reposent sur l'utilisation d'un nombre restreint de modèles biologiques supposés représentatifs de différents écosystèmes et facilement manipulables au laboratoire. Par exemple, la toxicité de substances pour les écosystèmes aquatiques est évaluée par des tests utilisant des microalgues ou des daphnies, tandis que, pour les sols, le modèle biologique le plus courant est le ver du fumier. Les conditions de réalisation et le périmètre de validité de ces tests sont standardisés (durée de l'exposition et du suivi des effets, caractéristiques du milieu expérimental, descripteurs d'effet…) pour permettre la comparaison de toxicité entre substances, entre laboratoires, entre études, etc. Le principe de ces tests est d'évaluer la toxicité aiguë, en partant d'une gamme de concentrations initialement large, par exemple en suivant une progression géométrique de raison 10 (100 ng/L, 1 µg/L, 10 µg/L, 100 µg/L, 1 mg/L…) et d'identifier l'intervalle de concentrations dans lequel se situe la valeur seuil d'intérêt. Dans le cas de la gamme illustrée, si les résultats du test indiquent que la CL50 de la substance étudiée se situe quelque part entre 100 µg/L et 1 mg/L, une gamme plus fine de concentrations bornée par cet intervalle sera établie et à son tour testée.

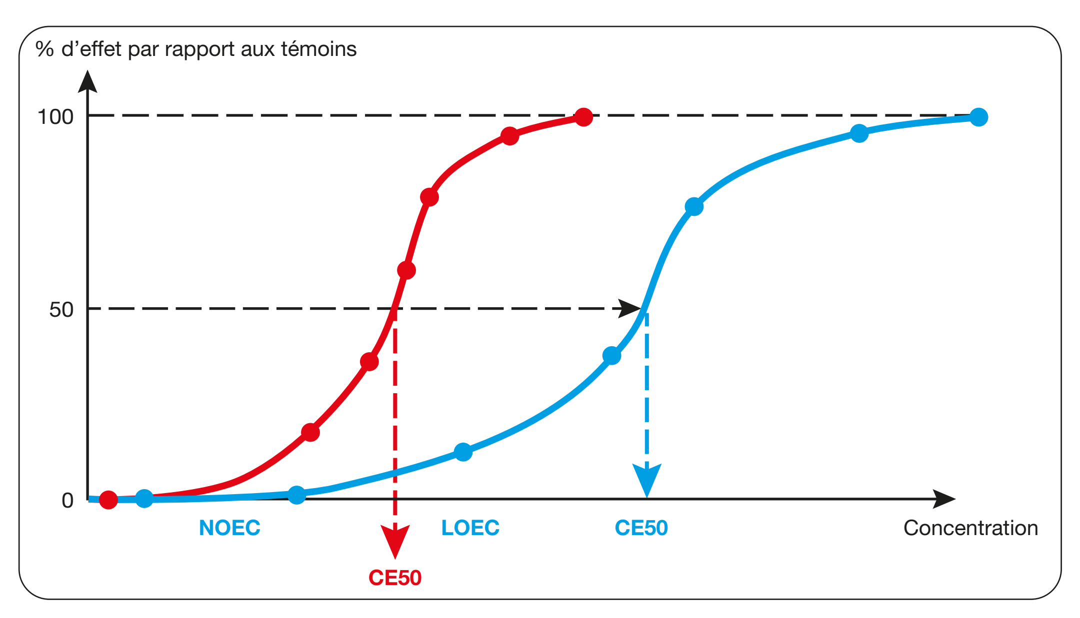



**Figure 2**. Relation entre concentration de la substance testée et effet toxique mesuré.
NOEC = dose la plus élevée sans effet observable.
LOEC = concentration la plus faible entraînant un effet.
CE50 = concentration entraînant un effet de 50 % par rapport au témoin ; lorsque l'effet mesuré est la mortalité, on parle alors de CL50 (concentration létale).
Dans cet exemple, les points correspondent à des données expérimentales : la courbe rouge révèle un produit plus toxique que la courbe bleue, sa CE50 étant plus faible.

L'opération peut être répétée plusieurs fois selon le degré de précision recherché. Il faut noter que toute connaissance préalable sur la toxicité de la substance est potentiellement utile pour définir les bornes de la gamme initiale et éviter de multiplier les tests. Ainsi, la nouvelle génération de pesticides inclut des molécules agissant à très faible dose sur les espèces cibles (p. ex. insecticides néonicotinoïdes et insectes ravageurs de cultures). Dans ce cas, le choix de concentrations élevées (de l'ordre du mg/L et au-delà) ne sera *a priori* pas pertinent si l'espèce modèle est elle-même un insecte. Quoi qu'il en soit, la démarche itérative permettra de cerner petit à petit la valeur de toxicité seuil recherchée.

Les conditions de test font l'objet de standards développés par les chercheurs puis validés et publiés par l'Organisation de coopération et de développement économique (OCDE) ou l'Organisation internationale de standardisation (ISO) sous forme de lignes directrices ou de normes.

Cette approche permettant l'identification de substances particulièrement toxiques et préoccupantes s'est vue progressivement complétée par une évaluation des impacts chroniques (à plus long terme) des substances, à des concentrations sublétales*. Le principe décrit pour la toxicité aiguë est parfaitement applicable à la toxicité chronique* (estimation d'une CEx* la plus précise possible, où x correspond au pourcentage d'effet par rapport au témoin). L'évaluation des effets repose alors sur d'autres types de marqueurs de réponse biologique correspondant à différentes échelles d'organisation : moléculaire, cellulaire, individuelle, populationnelle… voire écosystémique. Pour accroître le réalisme environnemental et considérer la complexité du fonctionnement des écosystèmes, les approches écotoxicologiques intègrent des espèces ou communautés biologiques diverses et effectivement rencontrées dans les milieux. Les données acquises et validées sont ainsi prises en compte dans la réglementation (souvent *via* des arrêtés) pour la régulation ou l'interdiction de

l'utilisation des substances préoccupantes pour l'environnement.

Sur le plan des finalités, l'écotoxicologie répond à des enjeux fondamentaux :

– prédiction du devenir des contaminants dans l'environnement ;

– compréhension des mécanismes impliqués dans la réponse des organismes à ces substances ;

– identification des conséquences fonctionnelles et sur la biodiversité à l'échelle des écosystèmes.

Sur le plan appliqué, l'écotoxicologie contribue à l'établissement :

– de documents guides ;

– de normes de qualité environnementale (NQE*) ;

– d'indicateurs,

pour le diagnostic et la gestion des milieux, la protection, la conservation de la biodiversité, et la restauration des écosystèmes.

Aujourd'hui, il apparaît clairement que la santé des écosystèmes, comme celle des plantes cultivées et des animaux d'élevage ou celle des humains, est altérée ou menacée par la pollution de l'environnement. Ce constat est à l'origine de l'initiative internationale *One Health* (Un monde – Une santé – Un futur) qui relève d'une prise de conscience des liens étroits entre santé humaine, santé des animaux et état écologique global. Cette initiative vise à promouvoir une approche pluridisciplinaire et globale des enjeux environnementaux et sanitaires. Initialement centrée sur les pathogènes et agents infectieux, cette approche s'est progressivement ouverte aux contaminations chimiques et a permis de conceptualiser la notion de santé globale ou santé écosystémique (*Eco-Health*), renforçant l'importance d'adopter une approche intégrative homme-animal-écosystème de la santé. Dans ce contexte, l'écotoxicologie a plus que jamais un rôle à jouer.

## À RETENIR

L'écotoxicologie est une science interdisciplinaire par nature, à l'interface entre la chimie environnementale, l'écologie, la physiologie et la toxicologie. Elle intègre le devenir et le transfert des contaminants dans l'environnement et dans le biote jusqu'à leurs effets sur la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes, et, par extension, les services qu'ils procurent aux humains. Elle répond à des enjeux fondamentaux de connaissance et des enjeux appliqués de gestion environnementale.



**Abeille domestique butinant : la pelote de pollen remplissant la corbeille de sa patte arrière gauche est bien visible sur ce cliché.**
La pollinisation est un des services écosystémiques fournis par les écosystèmes naturels, dont les humains peuvent bénéficier sans avoir à agir pour l'obtenir.
Les néonicotinoïdes (insecticides utilisés en particulier en agriculture) sont au cœur d'une controverse sur la disparition des abeilles domestiques.

## Références

Adriano D.C., 2001. *Trace elements in terrestrial environments: Biogeochemistry, bioavailability, and risks of metals*, 2de édition, Springer, New York, 867 p. doi.org/10.1007/978-0-387-21510-5.

IRSN, 2021. https://www.irsn.fr/FR/connaissances/Glossaire/ (consulté le 17 juin 2022).

Jouany J.-M., 1971. Nuisances et écologie, *Les Actualités pharmaceutiques*, (69), 11-22.

Ramade F., 1992. *Précis d'écotoxicologie*, Paris, Masson, 300 p. (collection d'écologie).

Truhaut R., 1977. Ecotoxicology: Objectives, principles and perspectives, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1 (2), 151-173.

Vasseur P., 2019. *Les fondements de l'écotoxicologie française*, Fiche thématique nº 22, 9 p. https://hal.inrae.fr/hal-02790713/document (consultée le 17 juin 2022).

Vasseur P., Masfaraud J.-F., Blaise C., 2021. Ecotoxicology, revisiting its pioneers. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 3852–3857, doi.org/10.1007/s11356-020-11236-7.

## Pour en savoir plus

Article en hommage à Jean-Michel Jouany, le père de l'écotoxicologie (plateforme Échosciences) : https://www.echosciences-grandest.fr/articles/hommage-a-jean-michel-jouany-le-pere-de-l-ecotoxicologie (consulté le 17 juin 2022).

Article sur les néonicotinoïdes (Anses) : https://www.anses.fr/fr/content/les-néonicotinoïdes (consulté le 17 juin 2022).

Crutzen P.J., Steffen W., 2003. How Long Have We Been in the Anthropocene Era? *Climatic Change*, 61 (3), 251-257, doi.org/10.1023/B:CLIM.0000004708.74871.62.

Newman M.C., Unger M.A., 2003. *Fundamentals of Ecotoxicology*, 2de édition, Lewis Publishers, 458 p. https://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/39519/mod_resource/content/1/Newman%202015%20%20Walker%202012_Introduccion.pdf.

Rapport sur les valeurs seuils : https://www.ineris.fr/fr/guide-pratique-choix-valeurs-seuils-toxicite-aigues-cas-absence-valeurs-francaises (consulté le 10 août 2022).

# 2. Pourquoi parler de changement de paradigme en écotoxicologie ?

Le paradigme initial de l'écotoxicologie postule implicitement que les réponses moyennes d'organismes modèles peuvent être extrapolées à d'autres espèces ainsi qu'à des niveaux d'organisation complexes (populations*, communautés*). Ces réponses permettraient ainsi de prédire des effets à une large échelle spatio-temporelle pour l'évaluation du risque* chimique pour les écosystèmes. Mais cette hypothèse simplificatrice trouve ses limites dès lors qu'on cherche à intégrer la complexité des conditions environnementales et des interactions entre polluants et réponses des organismes. Prendre en compte les différents niveaux d'organisation biologique et les différentes dimensions spatio-temporelles oblige à un changement de paradigme où l'on recherche des indicateurs d'exposition ou d'effets plutôt que la mortalité dans les réponses des organismes aux polluants pour élaborer de nouvelles relations conceptuelles.

## 2.1. LA RÉVISION DU PRINCIPE DE LA DOSE-DÉPENDANCE

La relation dose-réponse croissante et monotone*, selon laquelle les effets s'intensifient progressivement avec la concentration d'exposition*, est une hypothèse centrale en toxicologie et en écotoxicologie. Cette hypothèse n'est cependant pas systématiquement vérifiée dans la réalité, et le nouveau paradigme prend en compte désormais le fait que ce n'est pas forcément « la dose qui fait le poison ».

Par exemple, certaines substances peuvent à faible dose stimuler les défenses de l'organisme tandis qu'elles les inhibent à plus forte concentration. Ce phénomène de réponse biphasique, appelé hormèse*, a été mis en évidence dès 1887 par le toxicologue Hugo Schulz et présenté comme le principe sous-jacent de l'homéopathie. Il ne peut être décrit, ni modélisé par une simple fonction monotone (Calabrese, 2004). Pour ce qui est de la toxicité, la phase initiale positive de la réponse (**figure 3**) s'interprète

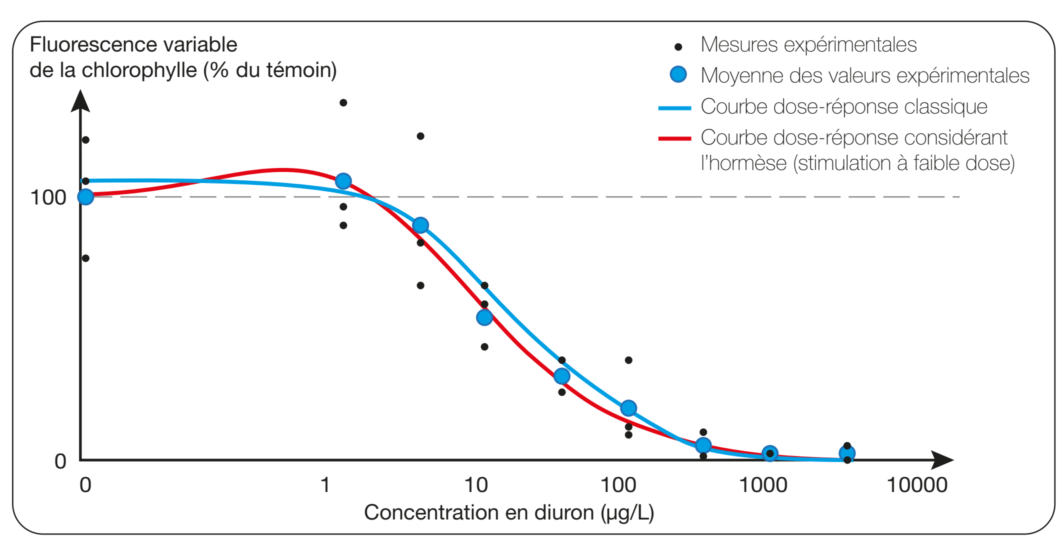



**Figure 3**. Exemple d'une courbe dose-réponse : cas de biofilms aquatiques exposés à un herbicide inhibiteur de la photosynthèse, le diuron.
On observe à faible dose une stimulation (courbe rouge) de la chlorophylle (indiquée par son niveau de fluorescence), suivie d'une diminution progressive de la chlorophylle avec l'augmentation de concentration en herbicide. Source : thèse de B. Chaumet, 2018, données non publiées.

comme résultant soit d'un effet direct de la substance soit d'une surcompensation de l'organisme exposé, à la suite de la perturbation de son homéostasie*. La phase négative correspond à la zone toxique où les limites homéostatiques sont dépassées. Longtemps ignoré en écotoxicologie, probablement parce que difficile à interpréter en matière d'effet bénéfique ou néfaste du point de vue écologique, ce modèle de réponse biphasique peut permettre de mieux comprendre certaines relations entre traits* de réponse, lorsque ceux-ci sont reliés négativement (on parle alors de compromis, ou *trade-off* en anglais). C'est le cas de certains traits d'histoire de vie (croissance *vs* reproduction, nombre d'œufs *vs* taille des œufs, etc.).

Toutefois, le modèle hormétique fait lui-même l'objet de débats de longue date au sein de la communauté scientifique, en particulier sur la notion d'effet considéré comme « positif » au sens de « bénéfique » à faibles doses (Rix et Cutler, 2022).

On peut également mentionner ici le cas emblématique des perturbateurs endocriniens, substances de natures très variées, mais regroupées sous cette appellation en raison de leurs modes d'action capables d'interférer avec le système hormonal, notamment en mimant les ligands naturels de récepteurs nucléaires. Certaines de ces substances peuvent agir de façon non monotone *via* par exemple, à faible dose, l'activation d'un récepteur nucléaire avec lequel elles présentent une affinité suffisante. À plus forte dose elles peuvent induire d'autres types d'effets, tels que cytotoxicité, réduction du nombre de copies du récepteur, désensibilisation du récepteur ou encore rétrocontrôle négatif. Selon le paramètre biologique mesuré, la relation dose-réponse peut alors s'inverser avec l'augmentation de concentration.

Un autre phénomène pouvant conduire à s'écarter de la relation dose-réponse attendue pour une substance donnée est l'effet du mélange de certains contaminants, également appelé « effet cocktail* ». Il reflète des effets combinés potentiellement supérieurs à la somme des toxicités individuelles avec les mêmes concentrations pour les substances composant le mélange. Un mélange de substances à des concentrations isolément non toxiques peut même révéler un effet de potentialisation des substances les unes sur les autres. L'absence d'effet observé pour une substance donnée ne peut donc pas être considérée comme une garantie d'innocuité. Reprenant l'exemple des perturbateurs endocriniens, de telles relations d'interaction synergique reportées chez l'humain ont récemment trouvé une explication mécaniste possible, basée sur un effet de stabilisation mutuelle entre deux molécules différentes lorsqu'elles sont présentes simultanément dans la poche de liaison du récepteur avec lequel elles ont une affinité (Delfosse *et al.*, 2016).

Ces molécules peuvent agir de façon non monotone sur une gamme donnée de concentrations ou s'associer entre elles et entraîner une toxicité à des doses pour lesquelles elles n'ont pas d'effet prises isolément. Il est alors impossible d'extrapoler des effets à des doses très faibles et de déterminer une concentration seuil en dessous de laquelle aucun effet environnemental n'est attendu (*Predicted No Effect Concentration* : PNEC*). De plus, dans le cas des perturbateurs endocriniens, un découplage entre l'exposition et l'effet observable est possible. Ainsi, certaines substances agissent également en fonction de la fenêtre temporelle d'exposition de l'organisme, fenêtre qui peut être très étroite (p. ex. un moment clé de son développement), avec des conséquences irrémédiables dès la naissance (substances tératogènes) ou ne s'exprimant que plus tard dans le cycle de vie, par exemple au stade adulte. Les effets peuvent même persister durant plusieurs générations, voire ne s'exprimer que dans la descendance non exposée. On parle alors d'effets transgénérationnels.

Ainsi, la dose-réponse monotone n'est pas une relation universelle, même si elle demeure vérifiée dans une grande majorité de cas. De plus, le raisonnement « une molécule = un mode d'action » est également remis en question dans le contexte actuel de multi-exposition, où certaines interactions peuvent être plus néfastes qu'attendu dans l'hypothèse d'additivité des effets, et peuvent s'exprimer de façon découplée de l'exposition.

## 2.2. SIGNAUX PRÉCOCES ET MODÈLES BIOLOGIQUES PLUS RÉALISTES POUR ÉVALUER L'ÉTAT ÉCOLOGIQUE

La gamme des modèles biologiques considérés pour mettre en évidence des effets s'est enrichie de modèles basés sur des organismes plus représentatifs de la biodiversité présente dans les milieux contaminés et plus en lien avec les processus écologiques qui s'y réalisent. Cela présente néanmoins des inconvénients : ces espèces sont parfois plus difficiles à maintenir au laboratoire et la connaissance fondamentale les concernant est généralement moins riche. Cependant, l'étude de ces organismes est aujourd'hui facilitée par les technologies moléculaires de type omiques*, qui apportent des connaissances fondamentales pertinentes (p. ex. génomique, épigénétique, endocrinologie, métabolomique) pour la compréhension des mécanismes impliqués dans les réponses toxicologiques. Dans ce cadre, le rôle joué par les ressources génomiques accessibles *via* les bases de données publiques (génomes de référence, séquences géniques et leur annotation fonctionnelle) ainsi que les outils associés (Blast, Gene Ontology, KEGG Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, etc.) est essentiel. On notera également à ce sujet que les connaissances disponibles chez les espèces modèles proches des espèces d'intérêt restent précieuses et sont largement mises à profit dans cette démarche (p. ex. pour les insectes, mais aussi pour les animaux en général, la mouche du vinaigre, un des organismes les plus étudiés en génétique et en biologie du développement). Par ailleurs, chez les espèces non-modèles, l'application d'approches combinées telles que la protéo-génomique a permis une progression significative dans ce domaine (Armengaud *et al.*, 2014).

Ce type de connaissance acquise en conditions de laboratoire peut ensuite être appliqué à une démarche prédictive dans des contextes moins contrôlés (p. ex. en conditions de terrain), impliquant des interactions potentielles entre molécules ou encore d'éventuels effets pléiotropiques*. La mise en œuvre de ces méthodes pour le criblage à haut-débit et sans *a priori* d'une multitude de marqueurs moléculaires et biochimiques (p. ex. des dizaines de milliers de transcrits, de protéines, etc.) est appropriée à la recherche et à la détection de signaux précoces indicateurs de stress, avant qu'ils ne se traduisent par des effets mesurables sur des traits biologiques plus intégratifs (*apical end points*). À l'échelle d'un organisme, un signal précoce peut être la surexpression d'un gène de réponse au stress, d'une protéine antioxydante, mais aussi une modification de profil général au niveau transcriptomique, protéomique, métabolomique, ou épigénomique. Du point de vue des mécanismes moléculaires et cellulaires, la réponse au stress résulte de l'activation de voies de signalisation qui peut se traduire, dans les minutes qui suivent la stimulation, par la transcription transitoire de certains gènes. Ceux-ci, dits « immédiats/précoces », jouent souvent eux-mêmes le rôle de facteurs de transcription d'autres gènes de réponse en aval (et donc exprimés plus tardivement). La dynamique temporelle de la réponse moléculaire est donc très importante à considérer dans ces approches globales de criblage. En effet, elles restent à ce jour encore trop observationnelles et ponctuelles (pour des raisons évidentes de coût), car elles ne fournissent que l'image de la séquence de réponse sur un moment défini *a priori* par l'expérimentateur et donc pas forcément optimal. Le niveau omique d'investigation doit à un certain point être approfondi par des approches moléculaires véritablement mécanistes.

Dans un autre registre, l'application des outils omiques à l'étude de communautés ou d'échantillons environnementaux (méta-omiques), en ouvrant une nouvelle voie d'analyse de la biodiversité et du fonctionnement écosystémique, offre aujourd'hui la possibilité d'aborder les questions d'impact des polluants à des niveaux particulièrement élevés de complexité biologique.

Un des enjeux actuels de l'écotoxicologie est de traduire un effet précoce identifié à l'échelle infra-organisme (p. ex. un gène surexprimé, une activité enzymatique accrue…) en conséquences à des niveaux supérieurs d'organisation biologique. Dans cette optique, il a

été proposé un cadre conceptuel de l'analyse des voies dites « de l'effet néfaste » (*Adverse Outcome Pathway*, AOP*) qui décrit la chaîne de propagation d'effets (les étapes). Cette chaîne commence par un événement moléculaire déclencheur (MIE, ou *Molecular Initiating Event*) et se poursuit avec les événements clés aux différentes échelles biologiques (cellule, organe, organisme entier, population, voire au-delà) qui induisent un effet adverse (AO ou *Adverse Outcome*) ayant une signification pour l'évaluation du risque (**figure 4**). Le cadre des AOP repose explicitement sur le changement d'échelle d'organisation biologique, du niveau moléculaire à l'individu, voire à la population ou à la communauté. Mais dans la pratique, ces deux derniers niveaux sont encore très rarement intégrés.

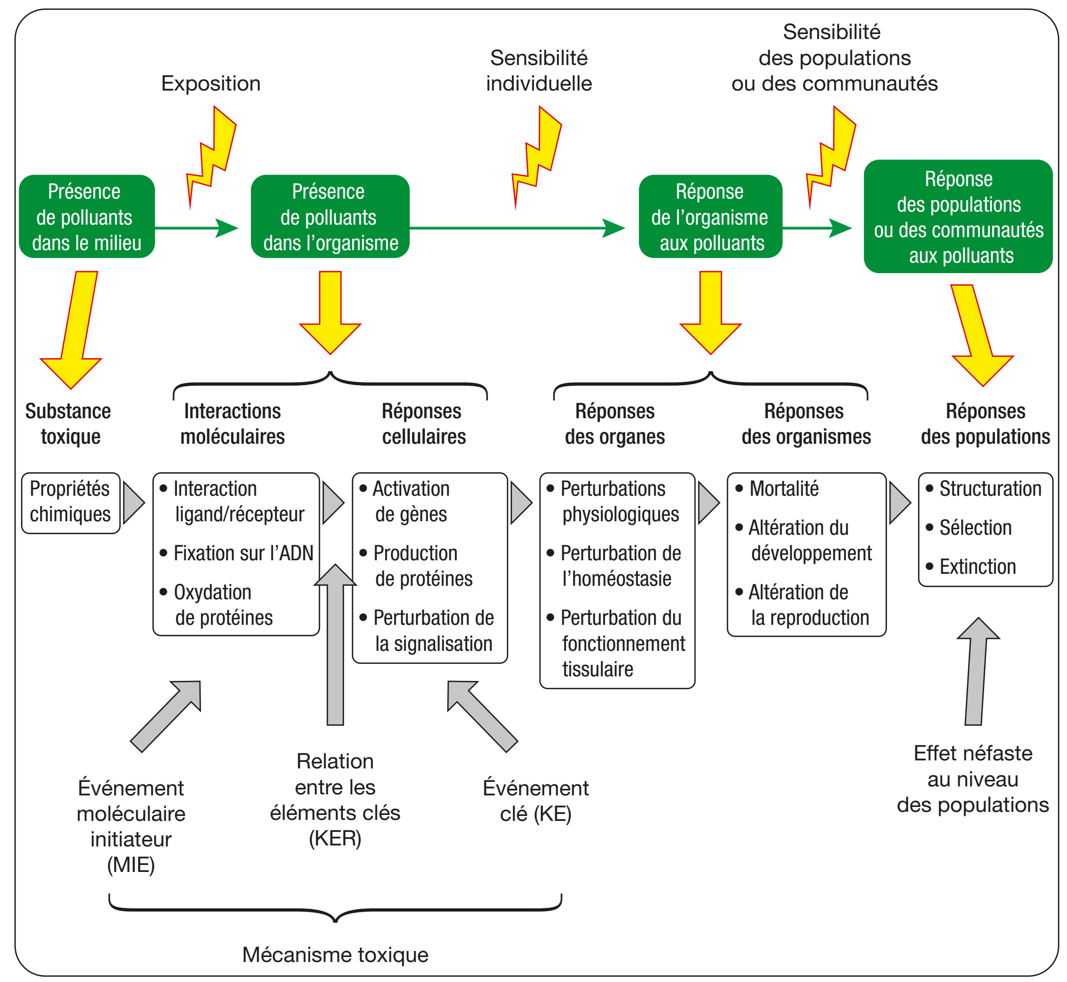



**Figure 4**. Représentation du cadre conceptuel du chemin de l'effet néfaste (*Adverse Outcome Pathway* – AOP) du passage d'un polluant dans un organisme à la suite d'une exposition.
Cette exposition se traduit, suivant les sensibilités des organismes, par un effet de la présence du polluant à l'échelle infra-individuelle ou de l'individu, qui se transpose à un niveau biologique supérieur en fonction des sensibilités des populations ou des communautés.
Construire une AOP demande à mettre en évidence l'événement initiateur (MIE, *Molecular Initiating Event*) et les événements clés (KE, *Key Events*) à l'origine des réponses des organismes et des effets sur les populations (d'après Ankley *et al.*, 2010).

## 2.3. VERS UNE PRISE EN COMPTE DE LA VARIABILITÉ DES RÉPONSES

En biologie, la variabilité est largement plus fréquente que l'uniformité, et cela vaut notamment pour la réponse au stress. Malgré la conscience de cette réalité, la variabilité a longtemps été considérée, en toxicologie, uniquement comme une source de perturbation pouvant masquer ou déformer la réponse étudiée. Afin de limiter cette variation, les protocoles standards reposent sur l'utilisation d'une souche ou d'une lignée génétiquement homogène, élevée ou cultivée au laboratoire depuis des dizaines voire des centaines de générations. Par exemple, dans la ligne directrice TG211 de l'OCDE* portant sur la reproduction de la grande daphnie, *Daphnia magna*, l'utilisation d'un seul clone est implicite (le clone A distribué par l'Ineris est même recommandé, en raison de ses performances satisfaisantes en conditions témoins). Sans remettre en cause l'intérêt évident d'écarter toute source de variation incontrôlée (notamment pour augmenter la puissance statistique de l'essai), il est à noter que ce raisonnement conduit à ignorer en toute conscience certains facteurs dont le rôle dans la réponse écotoxicologique peut pourtant s'avérer critique.

Ainsi, l'évolution de la résistance génétique, phénomène fréquent chez les espèces cibles de pesticides ou d'antibiotiques, ne peut être étudiée dans un essai reposant sur un seul clone, ou une seule lignée isogénique de l'espèce test. De façon plus générale, la réponse issue d'un clone renseigne sur la sensibilité* de ce clone particulier, et n'est pas forcément représentative de celle d'autres clones conspécifiques. Ce problème illustre à nouveau la question de l'extrapolation déjà abordée plus haut. Si la considération de la diversité génétique au sein d'une population ou d'une espèce, en tant que déterminant de la variabilité phénotypique des réponses au stress, semble évidente dans le contexte de recherche, elle ne l'est pas dans le cadre réglementaire, car sa plus-value ne fait pas consensus et peut être difficile à démontrer. Les raisons sont liées en partie au coût (expérimental et donc financier) que représenterait une telle démarche, ainsi qu'à la difficulté de traduire les résultats en indicateurs utiles à la prise de décision. Ainsi, le plus souvent, pour estimer le risque environnemental seul un test standard est préconisé. Il sera associé à un facteur de sécurité pour se situer en dessous du risque estimé. Cette approche se révèle cependant insuffisante, et nécessite que les substances en jeu soient connues. Une approche par paliers (nommée *tiered approach*) est désormais préconisée et tend à se mettre en place. Elle met en jeu une hiérarchie de procédures, depuis les plus simples jusqu'aux plus complexes, sur la base d'expérimentations et de modélisations. Le premier palier met en jeu des recherches bibliographiques et des méthodes *in silico** pour prédire la toxicité et la génotoxicité des substances en cause. Si lors du palier 1 une toxicité est mise en évidence, l'étape 2 est mise en œuvre en mettant en jeu des expérimentations et des bioessais non ciblés. C'est dans l'étape 3, si nécessaire, que des essais de toxicité seront conduits avec des substances standards ciblées. Cette approche par étapes vise à faire gagner du temps et à être moins coûteuse, mais son utilisation n'est pas encore en routine.

D'autres sources de variabilité sont importantes à considérer dans la réponse toxicologique, notamment celles liées à la vulnérabilité* des organismes. Ainsi, l'historique d'exposition d'un organisme à d'autres sources de stress que celle étudiée peut influencer sa réponse, et il apparaît judicieux de ne pas se limiter à étudier des individus fraîchement éclos, issus des conditions environnementales les plus favorables. La prise en compte concrète de l'historique d'exposition dans le cadre de l'exposome* vise à contribuer à combler ces lacunes.

La variation des réponses biologiques peut s'exprimer à différents niveaux, entre individus, populations, espèces, communautés, écosystèmes. À l'échelle d'un trait biologique (p. ex. métabolisation* d'un contaminant, tolérance au manque d'oxygène ou à la sécheresse, mais aussi croissance, âge à maturité sexuelle, fécondité, longévité, etc.), un génotype* donné peut, en fonction des conditions environnementales dans lesquelles il se développe et vit, produire différents phénotypes*, c'est-à-dire s'exprimer sous différentes formes. Cette aptitude définit

le concept de plasticité* phénotypique, qui occupe une place centrale en écologie évolutive et reflète un mécanisme essentiel de survie des organismes face au changement environnemental. Cette notion est étroitement liée à celle de valence écologique, qui représente la capacité à supporter les variations plus ou moins grandes des facteurs environnementaux.

La problématique du changement d'échelle biologique nécessite ainsi de prendre en compte :

– l'hétérogénéité des niveaux de sensibilité biologique ;

– la plasticité des traits à l'origine de la variabilité de sensibilité ;

– la valence écologique des espèces ;

– l'adaptation des populations et des communautés aux pressions de sélection que peuvent représenter certaines conditions environnementales.

Ces propriétés biologiques et les processus éco-évolutifs qui les affectent conduisent au maintien des organismes et des populations dans leur milieu au sens large, c'est-à-dire dans leur « niche écologique ». En condition de stress environnemental, soit hors du périmètre de cette niche, un organisme peut réagir à court terme par un comportement d'évitement (fuite, protection) ou en ajustant sa physiologie de façon labile (on parle alors d'homéostasie), autrement dit avec un retour possible à l'état « normal » lorsque le stress sera levé. Cette acclimatation physiologique repose sur l'activation de gènes de réponse au stress et de mécanismes de réparation aux niveaux moléculaire et cellulaire. Dans ce contexte, le rôle des mécanismes épigénétiques est primordial, par leur fonction de contrôle de la régulation de l'expression génique. Multiples, ces mécanismes ont en commun de ne pas impliquer de changement dans la séquence nucléotidique des gènes elle-même. Ils jouent un rôle clé dans le développement, la plasticité phénotypique et l'intégrité du génome. Répondant typiquement à des signaux endogènes (intrinsèques et extrinsèques à l'échelle d'une cellule), les mécanismes épigénétiques peuvent être déclenchés par des stress environnementaux et en particulier ceux liés à certains polluants chimiques, comme le montre un nombre croissant d'études dans ce domaine. Pour ces raisons, les modifications épigénétiques sont de plus en plus intégrées dans les questions de recherche en écologie moléculaire et en écotoxicologie, et ce d'autant plus que les moyens d'étude de ces modifications se sont considérablement améliorés grâce aux nouvelles technologies de séquençage haut débit.

## 2.4. EXPOSITION PONCTUELLE OU CHRONIQUE AUX CONTAMINANTS

Les effets toxiques directs attendus sur les organismes varient selon la durée et l'intensité de l'exposition. Dans le cas d'une exposition aiguë, ponctuelle, des impacts fonctionnels majeurs sont en général directement observables. Ils peuvent aller jusqu'à induire de la mortalité. Mais une récupération rapide des fonctions est généralement attendue une fois la pression toxique levée.

Au contraire, une exposition chronique, concernant souvent des doses plus faibles, peut entraîner des impacts, directs ou indirects, plus ou moins durables. Ainsi, lorsque le stress environnemental se maintient ou devient récurrent, des processus sélectifs d'adaptation peuvent se mettre en place à l'échelle de la population exposée. Ce type de processus repose sur le fait que la variation du niveau de tolérance entre les individus d'une même population comporte le plus souvent une certaine part héritable, qui trouve elle-même son origine dans la recombinaison génétique. Ce brassage de gènes est réalisé par la reproduction sexuée chez les eucaryotes, tandis que, chez les procaryotes, il se fait par transfert de matériel génétique d'un individu à un autre. La sélection, qui opère sur les phénotypes (« c'est parce qu'on exprime une plus grande tolérance qu'on est sélectionné »), a pour effet de favoriser les variants génétiques contribuant à cette plus grande tolérance. Ce processus se réalise au fil des générations, mais peut être très rapide, si la pression de sélection est très forte (ex. des évolutions de résistance aux insecticides). Il faut préciser que l'adaptation génétique peut avoir un coût énergétique pour les individus, et réduire la valeur sélective

des génotypes résistants lorsque cette pression est levée. De plus l'érosion génétique associée à la sélection directionnelle induit en théorie une perte de capacité de réponse (adaptabilité) à la variation d'autres facteurs environnementaux. Dans le contexte actuel de changements globaux, ces effets sont à considérer.

Il est intéressant à ce stade de faire un retour sur la question épigénétique. En effet, nous savons que les modifications épigénétiques, parce qu'elles sont héritables au niveau cellulaire, se maintiennent au cours de la vie d'un organisme, y compris après exposition. De plus, elles peuvent parfois se transmettre d'une génération à la suivante, bien que les conditions de cette transmission ne soient pas clairement comprises, notamment chez les espèces où l'ensemble des marques épigénétiques sont effacées dans la lignée cellulaire germinale (processus de reprogrammation). La transmission de caractéristiques parentales indépendante de la séquence d'ADN elle-même a conduit à élargir la notion d'héritabilité en y incluant une composante non génétique. À l'échelle d'une population, il est attendu qu'une réponse adaptative reposant sur ce type de transmission se répande de façon beaucoup plus rapide et efficace à la population entière qu'une réponse par évolution sélective d'un variant génétique avantageux, parce que la réponse adaptative concerne *a priori* tous les individus exposés de façon simultanée. De plus, lorsque les conditions environnementales reviennent à la normale, ce type de réponse est supposé s'inverser plus rapidement qu'une réponse génétiquement sélectionnée.

Dans le contexte écotoxicologique, il est désormais évident que les processus adaptatifs, qu'ils soient génétiques ou épigénétiques, doivent être pris en compte dans l'évaluation des effets des substances chimiques, car ils ont le potentiel de moduler la sensibilité des organismes et des populations.

## 2.5. LES ORGANISMES : CIBLES ET ACTEURS DES CONTAMINATIONS

En plus d'être des cibles des contaminants, les organismes sont aussi des acteurs du devenir de ces substances. L'interaction des organismes avec les contaminants peut être vue au travers de l'évaluation de leurs réponses, par exemple *via* la métabolisation, le stockage, ou la détoxification du contaminant. Cette interaction, au sens littéral du terme (action des contaminants sur les organismes et action des organismes sur les contaminants), est importante à considérer, mais on est encore loin de savoir comment modéliser ces effets de type feed-back pour prédire les impacts des contaminants sur les écosystèmes.

Les communautés représentent un niveau d'organisation biologique important pour l'écotoxicologie, car elles permettent d'aborder des questions écologiques complexes telles que celles des interactions biotiques ou relatives au fonctionnement des écosystèmes. Cependant, la toxicité reste très difficile à évaluer à ce niveau d'organisation, en raison justement de cette complexité inhérente. Les approches ont longtemps été focalisées sur des descripteurs essentiellement structurels basés sur l'identification d'espèces et le dénombrement d'individus échantillonnés (diversité taxonomique). Désormais, les approches intègrent des indicateurs de diversité fonctionnelle, représentatifs des fonctions écologiques* assurées par les espèces et groupes d'espèces présents (p. ex. la dégradation de la matière organique par les micro-organismes ou par les invertébrés aquatiques). Les impacts des polluants sur la biodiversité taxonomique, génétique ou fonctionnelle représentent un enjeu majeur de l'écotoxicologie actuelle, qui de ce point de vue rejoint la biologie de la conservation. En effet, la disparition d'espèces constitue un impact irrémédiable, et le dysfonctionnement de certains écosystèmes, une fois révélé, peut s'avérer très difficile à enrayer parce que sous-tendu par des mécanismes profonds et multiples. C'est pourquoi il est nécessaire de disposer d'outils d'estimation fiables de la dégradation précoce de la biodiversité (marqueurs génomiques, épigénomiques et métagénomiques), et de celle des écosystèmes (signaux faibles et précoces, points de basculement), même si ces outils ne sont pas spécifiques au champ de recherche de l'écotoxicologie.

## 2.6. LA FENÊTRE D'EXPOSITION ET SA DURÉE, FACTEURS CLÉS POUR COMPRENDRE LES EFFETS

Les enjeux de l'écotoxicologie moderne comprennent la prise en compte des aspects temporels de la contamination des milieux ainsi que de l'exposition des organismes.

Pour la contamination, il s'agit par exemple de tenir compte de la saisonnalité de certains traitements chimiques et des conditions environnementales, ou du caractère répétitif, bien que discontinu, de certaines contaminations récurrentes (introduction de pesticides sur des cultures p. ex.). Il y a également la prise en compte de l'historique de la contamination, c'est-à-dire du passif environnemental notamment pour les sols ou les sédiments. Les contaminants anciens stockés dans ces milieux se retrouvent parfois sous des formes non disponibles* pour les organismes — on parle alors d'atténuation naturelle (Nowak *et al.*, 2002) — et le milieu, bien que contaminé, ne présente pas de signes de toxicité. Mais ce processus d'atténuation est réversible : les contaminants peuvent être relâchés dans l'environnement sous l'effet d'un changement ou d'une action humaine (exemple des remises en suspension de sédiments et relargage des contaminants lors de curages de barrages).

Concernant l'exposition, la dimension temporelle renvoie au déroulement du cycle de vie des organismes et à leur sensibilité variable selon les stades. Il est par exemple communément admis que les organismes juvéniles sont plus sensibles aux contaminants que les adultes, des travaux récents montrant que cela s'applique aussi pour les nouveaux contaminants que sont les microplastiques (Eltemsah et Bøhn, 2019). En revanche, cette sensibilité plus grande des juvéniles par rapport aux adultes n'est pas systématique en ce qui concerne leur comportement d'évitement (Gainer *et al.*, 2019). Pour viser à introduire un aspect temporel dans la caractérisation de l'exposition, la notion d'exposome chimique est désormais bien ancrée dans les travaux, l'exposome se définissant comme l'ensemble des facteurs environnementaux auxquels un individu est confronté dans sa vie. On est ainsi passé d'approches écotoxicologiques visant à évaluer les impacts d'un contaminant étudié isolément à un temps donné, à des approches s'intéressant aux effets d'une exposition multi-substances dans une dynamique temporelle. La multiplicité des contaminants environnementaux et les effets interactifs qui peuvent en résulter (étudiés sous le nom d'effets cocktail*), ainsi que l'introduction permanente de nouvelles substances, complexifient l'évaluation de la toxicité intégrée des milieux.

La multitude de substances présentes vient s'enrichir des produits de la dégradation des molécules mères : certains contaminants organiques peuvent en effet être dégradés dans l'environnement par voie abiotique (photolyse, hydrolyse…) ou par voie biotique, engendrant de nouvelles molécules s'ajoutant à la contamination ambiante. Des travaux récents démontrent une toxicité parfois supérieure de certains de ces produits de dégradation par rapport à la substance mère, c'est le cas du norflurazon et du desméthyl-norflurazon, ainsi qu'une plus forte rémanence* comme pour le glyphosate qui se dégrade rapidement en une molécule beaucoup plus rémanente, l'AMPA (acide aminométhylphosphonique). Les normes de qualité environnementale (NQE*) définies par la directive-cadre sur l'eau (DCE*) illustrent cette prise en compte des effets cumulatifs des substances. Par exemple, pour les eaux souterraines, les pesticides et leurs métabolites doivent respecter la limite de concentration de 0,1 µg/L par substance, et de 0,5 µg/L pour les pesticides totaux. Enfin, divers facteurs environnementaux étant susceptibles de moduler ou d'exacerber la toxicité des substances *in natura** comme les facteurs liés au changement climatique (température, sécheresse, régime des pluies), l'évolution des approches va actuellement vers l'intégration du multi-stress.

## 2.7. L'ÉCOTOXICOLOGIE À TRAVERS LE PRISME DE LA DIMENSION SPATIALE

Enfin, le changement de paradigme se traduit aussi par l'intégration d'une dynamique spatiale dans l'approche des questions posées à l'écotoxicologie, que ce soit pour les transferts de polluants ou pour les réponses biologiques. Ainsi, l'écotoxicologie du paysage prend en

compte l'organisation de ses éléments (haie, rivière…) comme des facteurs influant sur la répartition et les effets des contaminants. Encore en pleine évolution, cette partie de l'écotoxicologie vise à introduire toujours plus de réalité écologique dans les études de ce domaine. Il s'agit d'élargir les connaissances acquises en général en un point donné à l'échelle du paysage. On considère alors la fragmentation ou l'homogénéisation des paysages, la structure des réseaux trophiques*, les interactions entre stress biologique et chimique, et la résilience des communautés perturbées dans un contexte spatialement explicite. Ces approches intègrent le déplacement dans l'espace des espèces à grande capacité de dispersion et à habitat très large.

Ainsi, l'écotoxicologie dite « moderne » vise à impulser un fort réalisme environnemental et écologique, ce qui la distingue de l'écotoxicologie dite « traditionnelle ». Les différentes approches spatio-temporelles représentent toutes des dimensions d'étude de l'écotoxicologie en lien avec différents niveaux de pertinence écologique (**figure 5**).

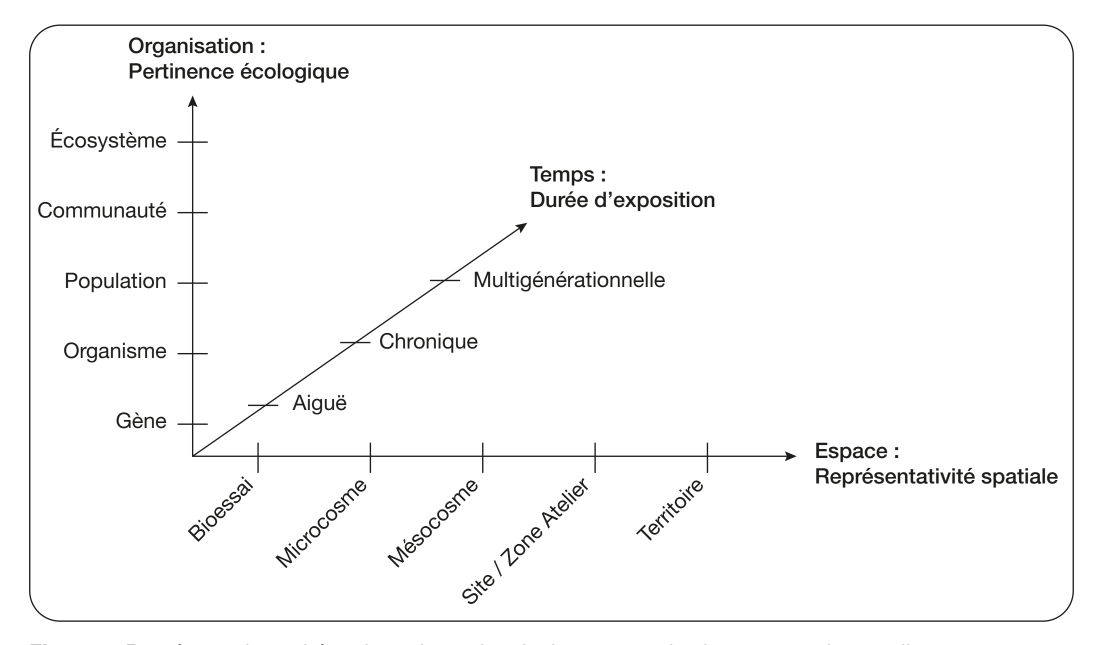



**Figure 5**. Représentation schématique des trois principaux axes de changement de paradigme. Actuellement les travaux d'écotoxicologie s'orientent vers plus de représentativité environnementale, dans le sens croissant de complexité indiqué par les flèches des différents axes, souvent au détriment d'une facilité de mise en œuvre.

## À RETENIR

L'écotoxicologie est passée d'un objectif normatif à une ambition de compréhension des mécanismes avec une portée de prédiction, en intégrant la multi-contamination de l'environnement. Les effets toxiques ne sont plus nécessairement considérés comme exclusivement liés à la dose d'exposition et l'évaluation de la toxicité tient compte des modalités d'exposition (fenêtre de sensibilité, cooccurrence de diverses substances, etc.). L'attention portée aux effets sublétaux* et chroniques donne naissance à une vision plus intégrée (complexité des contaminants, complexité des cycles des organismes) qui s'est substituée à l'approche de toxicité aiguë* initiale.

### *Références*


Ankley G.T., Bennet R.S., Erickson R.J., Hoff D.J., Hornung M.W., Johnson R.D., Mount D.R., Nichols J.W., Russom C.L., Schmieder P.K., Serrano J.A., Tietge J.E., Villeneuve D.L., 2010. Adverse Outcome Pathways: a conceptual framework to support ecotoxicology research and risk assessment, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29 (3), 730-741, doi.org/10.1002/etc.34.

Armengaud J., Trapp J., Pible O., Geffard O., Chaumot A., Hartmann E.M., 2014. Non-model organisms, a species endangered by proteogenomics, *Journal of Proteomics*, 105, 5-18, doi.org/10.1016/j.jprot.2014.01.007.

Calabrese E.J., 2004. Hormesis: a revolution in toxicology, risk assessment and medicine, *EMBO reports*, 5 (S 1), S37 - S40, doi.org/10.1038/sj.embor.7400222.

Chaumet B., 2018. *Transfert et distribution des pesticides dans les biofilms en lien avec les effets toxiques associés*, thèse de doctorat, spécialité Géochimie et Écotoxicologie, Université de Bordeaux, 284 p., https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-02410777 (consulté le 16 juin 2022).

Delfosse V., Balaguer P., Bourguet W., 2016. L'association fait le poison. Nouveau regard sur l'effet cocktail des xénobiotiques et les interactions médicamenteuses, *Médecine/sciences*, 32 (4), 326-328, doi.org/10.1051/medsci/20163204005.

Eltemsah Y.S., Bøhn T., 2019. Acute and chronic effects of polystyrene microplastics on juvenile and adult *Daphnia magna*, *Environmental Pollution*, 254 (Part A, 112919), doi.org/ 10.1016/j.envpol.2019.07.087.

Gainer A., Akre R., Owojori O.J., Siciliano S.D., 2019. Protecting vulnerable individuals in a population: is the avoidance response of juvenile soil invertebrates more sensitive than the adults response?, *Chemosphere*, 220, 658-667, doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.12.113.

Nowak C., Mossmann J.-R., Saada A., 2002. *État des connaissances sur l'atténuation naturelle : mécanismes et mise en œuvre*, Rapport BRGM/RP-51960-FR, 97 p., http://infoterre.brgm.fr/rapports/RP-51960-FR.pdf (consulté le 16 juin 2022).

Rix R.R., Cutler G.C., 2022. Review of molecular and biochemical responses during stress induced stimulation and hormesis in insects, *Science of the Total Environment*, 827 (154085), doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154085.


### *Pour en savoir plus*


Archaimbault V., Rosebery J., Morin S., 2010. Traits biologiques et écologiques, intérêt et perspectives pour la bio-indication des pollutions toxiques, *Sciences Eaux & Territoires*, 1, 46-51, doi.org/10.14758/SET-REVUE.2010.1.10.

Article sur l'exposome, empreinte des expositions d'une vie (INRAE) : https://www.inrae.fr/actualites/lexposome-empreinte-expositions-dune-vie (consulté le 21 juin 2022).

Backhaus T., Faust M., 2012. Predictive environmental risk assessment of chemical mixtures: a conceptual framework, *Environmental Science & Technology*, 46 (5), 2564-2573, doi.org/10.1021/es2034125.

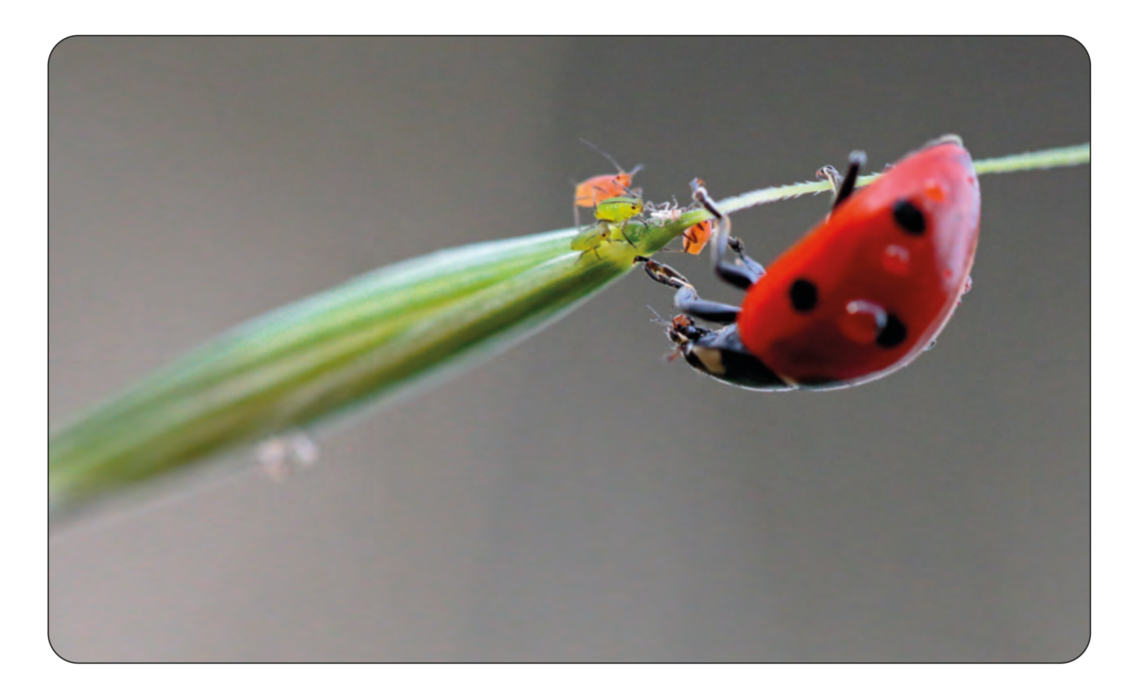
National Research Council, 2012. *Exposure Science in the 21st Century: A Vision And A Strategy*, Washington, The National Academies Press, 210 p., doi.org/10.17226/13507.

Page du site de l'OCDE sur les AOP :
https://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/adverse-outcome-pathways-molecular-screening-and-toxicogenomics.htm (consulté le 18 juin 2022).

Scholz S., Nichols J.W., Escher B.I., Ankley G.T., *et al.*, 2022. The Eco-Exposome Concept: Supporting an Integrated Assessment of Mixtures of Environmental Chemicals. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 41 (1), 30-45, doi.org/10.1002/etc.5242.

Site collaboratif sur les AOP :
https://aopwiki.org (consulté le 16 juin 2022).

Thybaud É., Troise A., 2016. *Adverse outcome pathways : concept et exemple*, Fiche thématique nº 2, 4 p., https://www6.inrae.fr/ecotox/content/download/4204/45813/version/1/file/16-Fiche-AOP.pdf (consulté le 16 juin 2022).



**Coccinelle mangeant des pucerons**.
Les organismes sont soit exposés directement, par contact avec des substances dont ils sont la cible comme les insecticides, soit exposés indirectement. Par exemple, les coccinelles se nourrissent des pucerons qui sont la cible d'insecticides. En tant qu'espèces non-cibles, elles se retrouvent pourtant exposées aux substances toxiques *via* la chaîne trophique plante – puceron – coccinelle.

# 3. Comment prendre en compte la complexité des processus en écotoxicologie ?

À l'échelle de l'individu, la prédiction des effets des contaminants nécessite d'identifier les processus qui peuvent conduire à l'expression d'un effet toxique.

Si les mécanismes à prendre en compte sont complexes, divers outils et modèles ont été développés pour répondre aux problématiques de détection des substances, pour appréhender l'exposition* effective des organismes et leurs réponses biologiques, et pour modéliser les relations entre exposition et impact toxique.

## 3.1. LA BIODISPONIBILITÉ : PROCESSUS ET CONCEPTS

Les concentrations totales en contaminants, mesurées dans l'environnement, constituent une approximation de l'exposition des organismes, généralement surestimée. En effet, pour générer un effet toxique, les contaminants doivent, d'une part, se trouver dans l'environnement sous une forme chimique spécifique que l'organisme peut prélever et, d'autre part, entrer en contact avec cet organisme. L'expression de l'effet toxique résultera ainsi d'un ensemble de processus ayant permis au contaminant de pénétrer dans l'organisme. Ces processus eux-mêmes sont sous la dépendance d'autres processus ayant permis au contaminant de se présenter sous une forme impactante (**figure 6**). Prévoir le comportement des contaminants vis-à-vis d'une cible biologique requiert donc en première étape une recherche des formes sous lesquelles ils sont présents, on parle de la connaissance de leur spéciation*. Les contaminants de l'environnement susceptibles de rentrer en contact avec un organisme forment un pool d'éléments dits disponibles*. La fraction des contaminants qui sera effectivement assimilée par un organisme et qui pourra alors provoquer des effets est, elle, appelée biodisponible* : on parle respectivement de biodisponibilité environnementale pour l'assimilation et de biodisponibilité toxicologique dès lors qu'on s'intéresse aux effets. Ces notions de disponibilité* et de biodisponibilité* ont été récemment codifiées dans une norme (NF ISO 17402) afin d'unifier le vocabulaire, car ce sont des concepts non directement mesurables, mais qui peuvent être appréhendés à travers différentes techniques de mesure. Il est important d'insister sur le fait que la disponibilité et la biodisponibilité ne sont pas des valeurs uniques caractérisant un contaminant donné, la disponibilité dépendant des conditions du milieu et la biodisponibilité étant liée à la cible.

On suppose que, pour être disponible, un contaminant doit être susceptible de passer en solution. Ainsi, en milieu aquatique, les contaminants sont réputés être plus disponibles que dans les sols ou les sédiments. Pour ces derniers milieux, la complexité réside dans le fait que le contaminant se répartit en se fixant pour partie sur certaines phases solides, ce qui modifie sa spéciation et donc sa mobilité et sa biodisponibilité. Un contaminant chargé positivement peut être adsorbé sur les charges négatives des constituants minéraux des sols ou des sédiments, tout en restant facilement et rapidement mobilisable par un processus d'échange d'ions entre le sol et la solution. Cependant, un contaminant qui se trouve inclus dans une matrice complexe (p. ex. scorie industrielle, morceau de plastique) ne sera libéré dans le milieu qu'après altération de cette matrice, constituant un processus plus long. Finalement, quel que soit le milieu dans lequel on retrouve un contaminant, seule une fraction de sa concentration totale peut être considérée comme disponible. Et, pour connaître les différentes formes chimiques de ce contaminant dans un milieu, il faut connaître ses propriétés d'échange avec la solution. Le concept de disponibilité environnementale

intègre donc la localisation des contaminants dans la phase solide, les processus de passage en solution et la spéciation des éléments, molécules ou particules de contaminants dans la phase liquide. Cependant, un contaminant disponible dans l'environnement n'est pas forcément biodisponible.

Pour être effectivement biodisponible, il faut que le contaminant disponible rencontre l'organisme et franchisse une membrane biologique (**figure 6**). Les organismes peuvent réguler les quantités internalisées par une balance entre quantités absorbées et quantités excrétées. Un mécanisme de régulation

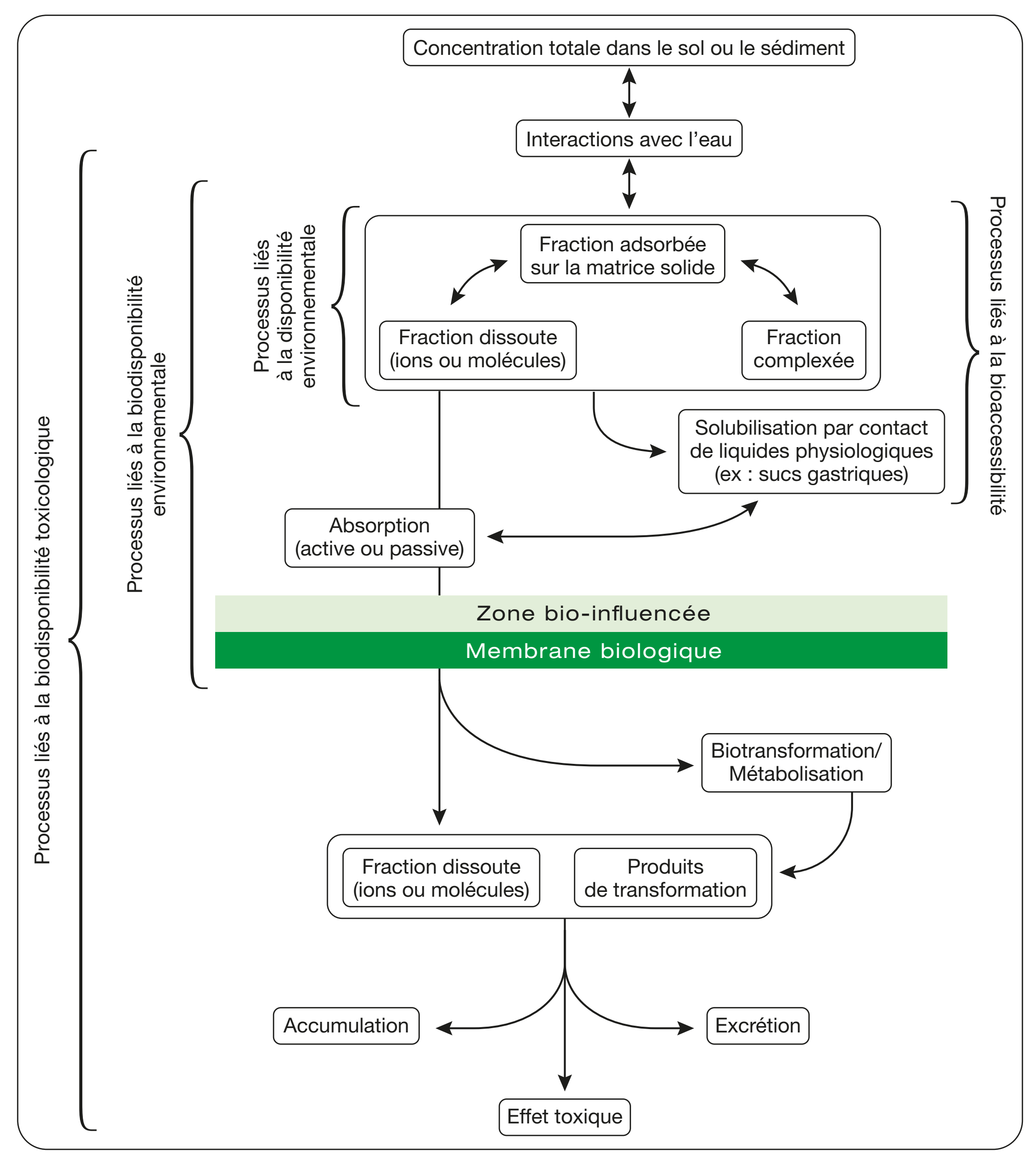



**Figure 6**. Processus impliqués dans l'exposition d'un organisme à un contaminant, incluant les concepts de disponibilité environnementale, biodisponibilité environnementale et biodisponibilité toxicologique, tels que définis par la norme ISO 17402.

consiste à modifier localement l'environnement physico-chimique, ce qui conduit à modifier la spéciation des contaminants au niveau de l'interface biotique, empêchant ou limitant son absorption. Quantifier la biodisponibilité environnementale, c'est-à-dire la prise en charge *sensu stricto* d'un contaminant par un organisme sans considérer l'effet, nécessite d'intégrer les processus biotiques d'absorption et d'excrétion. Ces processus sont à croiser avec les voies d'exposition : exposition directe d'une membrane biologique (épithélium tégumentaire, branchial, racinaire…) ou exposition indirecte *via* l'alimentation par exemple. Chez les organismes supérieurs, on identifie la fraction des contaminants bioaccessible*, parfois qualifiée de bioaccessibilité* orale en santé humaine, comme la fraction du contaminant ingéré par un organisme qui sera solubilisée dans le fluide gastro-intestinal.

Enfin, seule une fraction des contaminants internalisés va effectivement atteindre et perturber une cible biologique interne engendrant un effet toxique, ce qui correspond à la biodisponibilité toxicologique. Une fois dans l'organisme, le contaminant peut voir sa toxicité modifiée par un changement de spéciation ou par un stockage dans des structures particulières (ex. des trichomes* chez les végétaux supérieurs) ou des organites spécialisés (p. ex. vacuoles ou granules* chez les annélides du sol) qui séquestrent le contaminant et annulent ses effets potentiellement toxiques. La spéciation des contaminants peut également être modifiée par complexation avec des biomolécules. Ainsi, la biodisponibilité codifiée dans la norme ISO 17402 (Afnor, 2011) distingue des fractions quantitativement emboîtées : la biodisponibilité toxicologique qui met en jeu de nombreux processus ne représente qu'une fraction de la biodisponibilité environnementale, qui elle-même ne représente qu'une fraction de la disponibilité environnementale (**figure** 7). Autrement dit, pour exprimer un effet toxique, un contaminant doit déjà être biodisponible, c'est-à-dire avoir été en contact avec un organisme, et pour cela se présenter sous une forme disponible pour la cible dans son environnement.

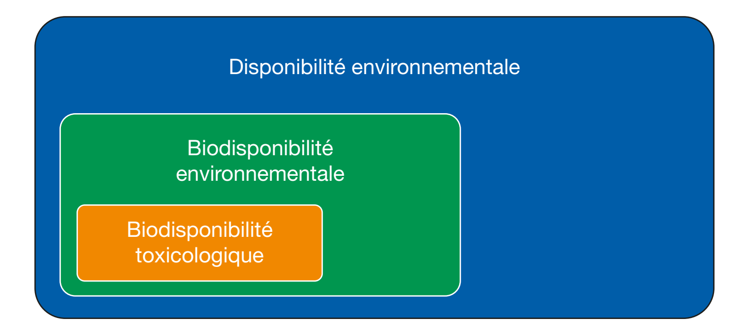



**Figure 7**. Représentation schématique quantitative des concepts de (bio)disponibilité selon la norme ISO 17402. Plus un concept intègre de processus différents, moins il sera quantitativement important.

Cette représentation en trois concepts : disponibilité, biodisponibilité environnementale et biodisponibilité toxicologique (**figure 6**) permet de quantifier la biodisponibilité de façon opérationnelle à l'échelle de l'individu. Mais il est encore difficile d'inclure dans ce schéma les nombreux processus qui interviennent dans les interactions contaminants-organismes et entre organismes. Par exemple, la symbiose n'est pas prise en compte, or, dans les sols, la mycorhization (association symbiotique entre des champignons et les racines de végétaux) joue un rôle important dans la biodisponibilité de certains contaminants pour les plantes. Le microbiote présent aux interfaces milieux-organismes peut modifier localement la spéciation des contaminants ou dégrader des molécules organiques, modifiant alors leur biodisponibilité. Il a été montré que certains contaminants conduisent à des effets sans qu'ils aient besoin d'être internalisés dans l'organisme lorsque, par exemple, il y a lipoperoxydation de la membrane cellulaire. D'autre part, certains contaminants initialement stockés dans des organes, cellules ou organites peuvent être déstockés au cours de la vie de l'organisme,

devenant à nouveau directement toxiques. Ainsi, les molécules organiques, telles que les HAP (hydrocarbures aromatiques polycycliques), qui peuvent être stockées dans les tissus adipeux, vont être libérées lorsque l'organisme maigrit.

Cependant, les processus résumés dans la **figure 6** sont majoritaires et ce sont eux qui ont été les plus quantifiés et modélisés.

## 3.2. LES MÉTHODES DE MESURE DE LA BIODISPONIBILITÉ

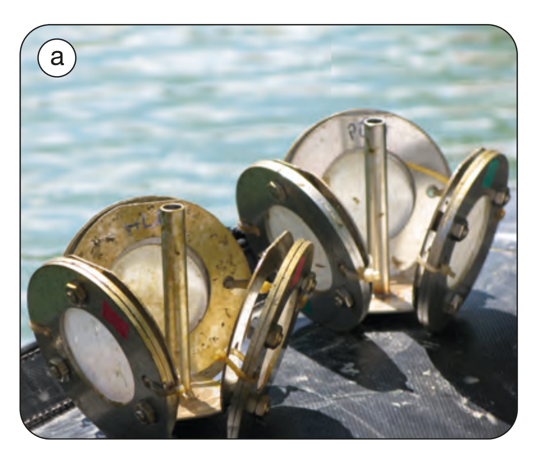
L'évolution constante des performances des outils analytiques est allée de pair avec l'augmentation du nombre de substances à analyser dans des matrices complexes. Il est désormais possible de doser un nombre toujours croissant de substances préoccupantes dans différents types de matrices, mais également d'abaisser substantiellement les seuils de détection. Les méthodes se déclinent en analyses ciblées et en analyses multi-résidus permettant la détermination d'une large gamme de contaminants. Elles sont élargies à des approches sans *a priori* couvrant la totalité du spectre des substances analysables par une méthode donnée. Le dosage des teneurs totales repose sur le choix d'une méthodologie qui dépend des milieux explorés. Le dosage dans les eaux est ainsi souvent plus simple à mettre en œuvre que le dosage dans les sols, les sédiments, ou les organismes, qui nécessite une minéralisation ou une extraction chimique préalable pour la mise en solution des contaminants. Les méthodes de minéralisation des matrices solides visent à extraire la totalité du contaminant présent, et il convient alors de s'assurer du rendement optimal.

Pour la mesure de la disponibilité des contaminants dans les phases solides sols et sédiments, la mise en œuvre d'extractions partielles permet de quantifier des pools particuliers de contaminants, en s'appuyant sur des hypothèses concernant les capacités d'absorption des organismes vis-à-vis des pools extraits (on parle alors de fraction extractible de façon opérationnelle). Par exemple, il est couramment admis que les plantes terrestres prélèvent les éléments en traces, comme les métaux, sous une forme d'ion libre $M^{x+}$ dans la solution du sol, et que ces cations se fixent sur les charges négatives présentes sur la matrice solide des sols. Une première approximation conduit donc à rechercher des méthodes d'extraction de ces formes chimiques en simulant les mécanismes d'échange d'ions. Divers extractants chimiques ont ainsi été proposés pour simuler différents processus de passage en solution, en relation avec différentes voies d'exposition. Par exemple, la méthode BARGE (*Bioaccessibility Research Group of Europe*) utilise des solutions mimant les liquides gastriques et vise à reproduire la bioaccessibilité* orale. Pour mettre en évidence et faire intervenir les différentes forces de liaison des contaminants avec les phases solides, des techniques d'extractions chimiques séquentielles ont été mises au point, d'abord sur des sédiments, puis appliquées au sol dans les années 1970. Ces extractions consistent à utiliser en séquences des extractants de plus en plus forts pour simuler des liaisons de force croissante avec les constituants solides. Différents schémas d'extraction sont proposés dans la littérature scientifique suivant les matrices et l'objectif des extractions. Élaborés surtout pour les éléments en traces, ils comportent tous au minimum trois étapes proposées comme harmonisation en Europe dès la fin des années 1980 par le *European Community Bureau of Reference* (BCR), désormais *Standards, Measurements and Testing Programme* (SM&T). La première extraction avec de l'acide acétique permet de définir un pool échangeable, extractible à l'eau et acido-soluble, considéré comme lié aux carbonates. En reprenant la fraction résiduelle de cette première étape, l'utilisation d'hydroxylamine permet d'extraire un pool de contaminants facilement réductibles, assimilés comme liés aux oxyhydroxydes de fer et de manganèse. Enfin, la reprise du résidu de cette étape 2 avec du peroxyde d'hydrogène permet d'avoir accès à une fraction oxydable, assimilée à des pools liés à la matière organique ou sous forme de sulfides. La dernière fraction correspond aux éléments non extractibles, ils seront considérés comme les moins biodisponibles.

Les chimistes de l'environnement ont cherché, pendant des années, l'extractant universel qui pourrait à lui seul rendre compte d'une relation entre une quantité mesurée chimiquement et la réponse d'un organisme. Mais la quête n'a toujours

pas abouti, car la relation n'est pas binaire. En effet, la concentration et la spéciation des contaminants évoluent dans le temps et il est essentiel de prendre en compte cette cinétique au regard de la cinétique d'exposition de l'organisme. Pour cela, le développement d'outils d'échantillonnage intégratif passif (p. ex. POCIS*, DGT*, **figure 8**) accumulant sur leur durée de déploiement les contaminants présents dans leur environnement a permis de quantifier des concentrations intégrées dans le temps et d'améliorer encore la sensibilité des mesures d'exposition en réduisant les limites de quantification (Gonzalez et Foan, 2015). Il faut noter que ces outils dits « passifs » ne peuvent effectivement simuler qu'une absorption passive de contaminants et s'avèrent donc inopérants lorsque l'organisme développe des mécanismes actifs d'absorption ou d'excrétion, une excrétion active pouvant être mise en place par l'organisme pour réguler ses teneurs internes. Les concentrations des contaminants mesurées dans l'environnement par ces outils sont considérées pour cela comme une approximation de l'exposition des organismes, au même titre que les mesures de disponibilité environnementale, mais en apportant la plus-value de l'aspect dynamique dans le temps.

En complément des mesures réalisées sur des matrices abiotiques (eau, sédiment ou solution de sol), et lorsque c'est possible, il est avantageux d'utiliser directement des organismes pour avoir accès à une mesure de la biodisponibilité. La détection de la présence de contaminants dans les organismes entiers ou dans certains de leurs organes utilise différents protocoles de mesure des concentrations en substances inorganiques et organiques, qui ont été développés dans cet objectif (voir p. ex. les fiches méthode d'Aquaref). Il s'agit soit de prélever des organismes *in situ** dans un environnement que l'on sait contaminé — auquel cas on aura une vue instantanée de la biodisponibilité, à comparer avec la disponibilité des contaminants aux lieux de prélèvements —, soit d'exposer sur un temps connu des organismes sains dans un environnement donné. Ces individus, appartenant le plus souvent à des espèces modèles, doivent pouvoir être récupérés par la suite pour analyses. Des techniques d'encagement sont ainsi fréquemment utilisées, par exemple avec les escargots pour le milieu terrestre (Vaufleury [de] *et al.*, 2009), ou avec les gammares pour le milieu aquatique (Chaumot *et al.*, 2021). Des microcosmes servant de milieu d'exposition sont aussi bâtis avec des organismes issus d'élevage, dont l'historique d'exposition et de génération est ainsi connu et maîtrisé. Ces organismes peuvent ensuite être transplantés dans le milieu à étudier.



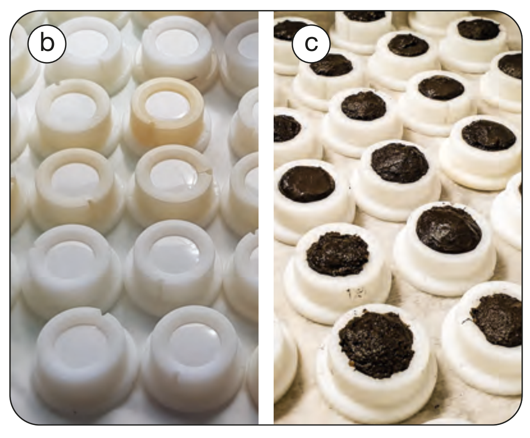




**Figure 8**. Exemples d'échantillonneurs intégratifs passifs.
À gauche (a), pour le milieu aquatique, les POCIS (Polar Organic Chemical Integrative Sampler) mis en œuvre ici pour les essais interlaboratoires organisés par le laboratoire Aquaref.
À droite, pour les milieux solides, sols et sédiments, les DGT (Diffusive Gradient in Thin Film) : (b) une série de DGT en cours de préparation puis (c) dans une expérimentation en cours de mesures de flux d'éléments en traces sur des sols.

Enfin la biodisponibilité toxicologique pouvant être quantifiée par les effets des contaminants sur les organismes, il faut noter que les outils analytiques de haut débit ont élargi le panel de descripteurs d'impact biologique possibles. L'intérêt des outils omiques* est qu'ils permettent d'analyser des effets précoces sur les organismes et les communautés* exposés. Les techniques omiques sont alors utilisées pour l'étude des réponses à différents niveaux, de l'expression du potentiel génétique (transcriptomique) à la production de protéines (protéomique) ou de métabolites (métabolomique). Ces outils permettent une approche des mécanismes impliqués dans la gestion du stress provoqué par la contamination, mais aussi l'étude des impacts sur les fonctions assurées par les organismes. L'impact sur la biodiversité peut être étudié avec l'analyse de l'ADN environnemental par métabarcoding (séquençage haut débit de fragments d'ADN), pour identifier les espèces dans un échantillon.

## 3.3. LES OUTILS DE MODÉLISATION MATHÉMATIQUE

Pour prédire la biodisponibilité, différents modèles de type statistique ou mécaniste ont été développés. Ils visent soit une généricité, soit à rendre compte de la complexité des processus conduisant aux effets toxiques. Mais le choix d'un modèle sera souvent dépendant de l'accessibilité à des données d'entrée.

L'hypothèse majeure que la fraction biodisponible du contaminant est régie par sa spéciation chimique a accompagné le développement des premiers modèles visant à prédire le devenir des substances dans l'environnement au travers de la description des processus géochimiques entre surfaces solides et solution pour les sols, les sédiments ou la fraction particulaire des milieux aquatiques. Pour les travaux concernant les éléments en traces*, et en assimilant une membrane biotique à une surface, une hypothèse s'est imposée dès les années 1970 suivant laquelle l'ion sous sa forme libre est l'espèce qui est directement biodisponible et la plus impactante. Cela a donné naissance au « modèle de l'ion libre » (*Free Ion Activity Model*, FIAM), selon lequel la concentration en éléments traces complexés à une « surface biotique » dépend seulement de la concentration en ions libres du milieu, indépendamment de tous les autres constituants présents. Il suffit donc de savoir calculer les teneurs en ions libres (à partir d'une teneur totale et de la connaissance des composants du milieu) pour avoir une approche quantitative de la biodisponibilité et passer d'un modèle décrivant le devenir d'un contaminant à un modèle d'exposition et d'impact. En milieu aquatique, le modèle FIAM a été élargi à celui du ligand biotique (*Biotic Ligand Model*, BLM), qui par la suite a été appliqué au milieu terrestre, donnant lieu au TBLM (*Terrestrial Biotic Ligand Model*). Ces modèles sont intéressants dans leur conception, car ils ont réussi à mettre très tôt en jeu à la fois des concepts de chimie, de physiologie et de toxicologie permettant d'aller jusqu'à l'élaboration de réglementations. Ils restent cependant cantonnés à l'échelle biologique de l'individu. Or la réponse à une exposition à des contaminants est exprimée différemment selon le niveau d'organisation biologique considéré.

L'un des enjeux majeurs pour l'écotoxicologie est de pouvoir prédire des effets à une large échelle, à partir de données généralement acquises à des échelles spatiales, temporelles ou biologiques inférieures, qu'il va s'agir de combiner. Par ailleurs, la prédiction d'effets sur la population* passe par une compréhension approfondie des mécanismes d'action des contaminants au niveau individuel. À l'échelle infra-individuelle, les modèles mathématiques toxicocinétiques-toxicodynamiques (en anglais, *Toxicokinetic-Toxicodynamic* ou TK-TD) permettent de décrire la biodisponibilité d'un contaminant *via* son assimilation. Celle-ci sera fonction de sa concentration externe, tandis que l'effet dépendra de sa concentration interne. La partie cinétique des modèles TK-TD transforme les concentrations externes en concentrations internes et nécessite une compréhension fine de ce qui se passe à l'intérieur des organismes. Un modèle très simple,

voire simpliste, va considérer l'organisme comme un seul compartiment avec des données d'entrée-sortie de substances. À des niveaux de complexité plus élevés, sont développés des modèles toxicocinétiques physiologiques (en anglais, *Physiologically Based Toxicokinetic* ou PB-TK), qui modélisent l'organisme comme formé de plusieurs compartiments et prennent en compte des informations liées au cycle de vie des espèces.

Un outil pour modéliser de façon mécaniste le changement d'échelle biologique de l'individu à la population a été formalisé d'abord en écotoxicologie aquatique dans les années 1990 au travers du développement de modèles du type *Dynamic Energy Budget* (DEB). Ces modèles sont basés sur le principe de conservation masse-énergie appliqué aux organismes. À l'échelle de l'individu, ils permettent d'interpréter des données telles que les changements de taux de survie, de reproduction ou de croissance ou encore les changements de flux d'énergie dans un organisme. En présence de contaminations, différents modes d'actions physiologiques des contaminants peuvent ainsi être définis dans le cadre de modèles DEBtox (assimilation, croissance, reproduction, maintenance…). La théorie DEB, associée à des modèles de dynamique des populations, fournit une approche mécaniste de la façon dont un effet à l'échelle de l'individu peut entraîner des conséquences au niveau de la population, reliant ainsi ces deux échelles biologiques au travers par exemple d'un effet sur la croissance ou la reproduction. Cette approche mécaniste permet également d'extrapoler pour des conditions non testées et d'inclure des effets dus aux externalités telles que la température ou des effets de mélanges de contaminants.

En écotoxicologie aquatique plusieurs modèles de dynamique de population de type « individu-centré » (*Individual Based Modelling*, IBM) ont été couplés à des modèles DEB. Ces modèles DEB-IBM ont démontré leur robustesse et leurs avantages considérables pour intégrer et modéliser des changements d'échelle entre niveaux d'organisation biologique dans la prise en compte d'effets de stress multiples. C'est pour le milieu sol et l'application à l'écotoxicologie terrestre que les développements de ces concepts sont les moins avancés.

Désormais les sciences ouvertes permettent le partage de nombreux modèles proposés en open source, les échanges de données et l'accès à la modélisation pour tous. Tous ces modèles répondent à des objectifs différents. On peut citer :

– pour les modèles thermodynamiques de spéciation : VMinteq et PHREEQC ;

– pour les modèles d'effets TK-TD : GUTS (*General Unified Threshold model for Survival*) et la plateforme MOSAIC (*Modelling and statistical tools for ecotoxicology*) ;

– pour modéliser les courbes dose-réponse : la plateforme REGTOX et bien sûr les packages R (par exemple le package DRomics pour les omiques).

De plus, on sait que les organismes sont rarement exposés *in situ* à une seule substance. Des modèles ont été développés pour ces expositions à des stresseurs chimiques multiples, afin de pouvoir tester, suivant les hypothèses émises, s'il y a plutôt :

– additivité des effets (lorsque l'effet combiné d'au moins deux substances chimiques est égal à la somme des effets de chacun pris individuellement) ;

– potentialisation (lorsqu'une substance qui n'a habituellement pas d'effet toxique est combinée à une autre substance entraînant pour cette dernière un effet beaucoup plus toxique) ;

– synergie (mise en place d'un effet plus grand que la somme des effets attendus si les substances avaient agi indépendamment) ;

– effets antagonistes dans les mélanges (lorsque l'effet combiné d'au moins deux substances est moins toxique que les effets individuels des substances ;

– effets dits « cocktails » (lorsque les substances prises individuellement produisent peu [ou pas] d'effets, mais que leur présence simultanée est toxique).

Cependant, comme pour toute modélisation, il faut garder du recul face aux résultats obtenus dont on sait que la principale limite est la qualité des données d'entrée du modèle.

### 3.4. COMPLEXITÉ ET VALIDATION DES EFFETS : DES TESTS ADAPTÉS

Pour un échantillon environnemental donné, les analyses chimiques ne peuvent être complètement exhaustives, et ne peuvent à elles seules rendre compte des effets d'interaction possibles entre les contaminants. De nombreux tests écotoxicologiques, ou bioessais, sont développés à l'échelle individuelle sur différentes espèces modèles, celles-ci étant souvent choisies pour leur facilité d'utilisation dans des conditions standardisées de laboratoire. Une partie de ces tests s'intéresse à des critères d'effet (on parle de *end point*) facilement observables : survie, croissance, reproduction, germination d'une graine… D'autres tests ont été développés à partir des outils de la toxicologie en santé humaine en se basant sur les mécanismes d'action toxique tels que la génotoxicité, la cancérogénicité ou la perturbation endocrinienne. C'est le cas du test connu sous le nom de test des comètes*, pour décrire un effet génotoxique, ou du test YES* pour détecter les substances à effets œstrogéniques présentes dans l'environnement. Les bioessais qui sont utilisés pour rendre compte de la toxicité d'un échantillon peuvent aussi orienter les expérimentations à suivre (extractions ou fractionnements p. ex. suivis d'analyses chimiques couplées aux bioessais) pour diminuer la toxicité de l'échantillon et ainsi isoler et doser si possible le ou les contaminant(s) responsable(s) de la toxicité. Ces approches de plus en plus utilisées sont appelées « analyses dirigées par les effets » ou EDA, *Effect-Directed Analysis*.

D'une façon générale, la diversité des substances toxiques, la diversité de sensibilité* des espèces et la nécessaire prise en compte de nombreux mécanismes d'action soulignent le besoin de plusieurs tests, sur des espèces de niveaux trophiques différents, pour la mise en évidence de la dangerosité d'une substance.

Même si ces tests sont toujours très utilisés, notamment dans le domaine de la réglementation, l'écotoxicologie cherche aujourd'hui à prendre en compte une plus grande complexité et à aller au-delà d'une description dose-réponse sur un critère d'effet. Ainsi se développent désormais des travaux sur les altérations de comportement des organismes exposés aux contaminants, ou sur la relation entre la réponse des organismes et les fonctions qu'ils assurent dans leurs habitats. Par exemple, le test normé appelé « Bait-lamina » ou « test des bandelettes appâtées » vise à quantifier l'activité biologique générale d'un sol (ISO 18311:2016). Les méthodes d'évaluation des risques*, développées dans le chapitre 6, cherchent à mieux rendre compte de la complexité. En particulier, une méthode appelée « approche Triade » (ISO 19204:2017) combine trois approches utilisant la chimie de l'environnement, les bioessais et les outils de l'écologie, de sorte à pouvoir compenser les incertitudes d'une approche avec les atouts des deux autres (Grassi *et al.*, 2022). D'une façon générale, comprendre les liens de cause à effet reste encore un défi pour l'écotoxicologie même si de nombreuses approches se développent pour intégrer la complexité des écosystèmes.

## À RETENIR

Face à la complexité des processus en jeu et des mécanismes sous-jacents, les écotoxicologues ont à leur disposition différents outils analytiques de plus en plus sensibles et de haut débit intégrant les techniques omiques, des modèles biologiques de plus en plus représentatifs de la biodiversité, et des outils de modélisation mécanistes et prédictifs. Nombre de ces outils sont déjà utilisés dans un but opérationnel ; ils restent en constante amélioration dans le domaine de la recherche.

## Références

Afnor, 2011. NF EN ISO 17402 : *Qualité du sol – Lignes directrices pour la sélection et l'application des méthodes d'évaluation de la biodisponibilité des contaminants dans le sol et les matériaux du sol*, 47 p.

Chaumot A., Perceval O., Recoura-Massaquant R., Degli Esposti D., Geffard O., 2021. Focus – Des bioessais écotoxicologiques *in situ* pour évaluer les impacts biologiques de la contamination chimique des cours d'eau nationaux : l'expérience du gammare, *Revue Sciences Eaux & Territoires*, Directive cadre européenne sur l'eau – Bilan de vingt années de recherche pour la reconquête de la qualité des masses d'eau (37), 88-91, doi.org/10.14758/SET-REVUE.2021.4.16.

Gonzalez J.-L., Foan L., 2015. *Évaluation de la contamination des eaux : comparaison des mesures par échantillonnage passif (DGT, POCIS, SBSE) et des mesures dans le biote. État de l'art et bilan des données disponibles*, rapport final programme Aquaref, Ifremer, La Seyne-sur-mer, https://www.aquaref.fr/system/files/Aquaref_2012-2013_G1d-IFREMER_ComparaisonEPvsBiote-VF_0.pdf (consulté le 17 juin 2022).

Grassi G., Lamy I., Pucheux N., Ferrari B. J. D. and Faburé J., 2022. State of the Art of Triad-Based Ecological Risk Assessment: Current Limitations and Needed Implementations in the Case of Soil Diffuse Contamination, *Frontiers in Environmental Science*, 10 (878238), doi.org/10.3389/fenvs.2022.878238.

ISO, 2016. ISO 18311 : *Qualité du sol – Méthode pour tester les effets des contaminants du sol sur l'activité alimentaire des organismes vivant dans le sol – Test Bait-lamina*, 16 p.

ISO, 2017. ISO 19204 : Qualité du sol – Procédure d'évaluation des risques écologiques spécifiques au site de la contamination des sols (approche TRIADE de la qualité du sol), 29 p.

Vaufleury A. (de), Fritsch C., Gimbert F., Pauget B., Cœurdassier M., Crini N., Scheifler R., 2009. Utilisation et intérêts des escargots et des micromammifères pour la bioindication de la qualité des sols, *Étude et Gestion des Sols*, 16 (3), 203-217, https://www.afes.fr/wp-content/uploads/2017/10/EGS_16_3_deVaufleury.pdf (consulté le 17 juin 2022).

## Pour en savoir plus

Exemples de tests couramment utilisés :
https://www.centreecotox.ch aller dans « Prestations d'expert », puis « Systèmes de tests ».

Fiches méthode d'Aquaref sur le biote :
https://www.aquaref.fr/matrice/biote

Férard J.-F., Blaise C. (éd.), 2013. *Encyclopedia of Aquatic Ecotoxicology*, Springer, Dordrecht, doi.org/10.1007/978-94-007-5704-2.

RECORD, 2012. *Biodisponibilité et Bioaccessibilité des polluants dans le cas des sols pollués. État des connaissances et pistes de recherche*, étude n° 10-0671/1A du réseau coopératif de recherche sur les déchets et l'environnement, 259 p., https://www.record-net.org/storage/etudes/10-0671-1A/rapport/Rapport_record10-0671_1A.pdf (consulté le 17 juin 2022).

Site du laboratoire national de référence pour la surveillance des milieux aquatiques (mise en réseau des compétences et des capacités de recherche de différents établissements publics) :
https://www.aquaref.fr/accueil

Sites sur les modèles en écotoxicologie :

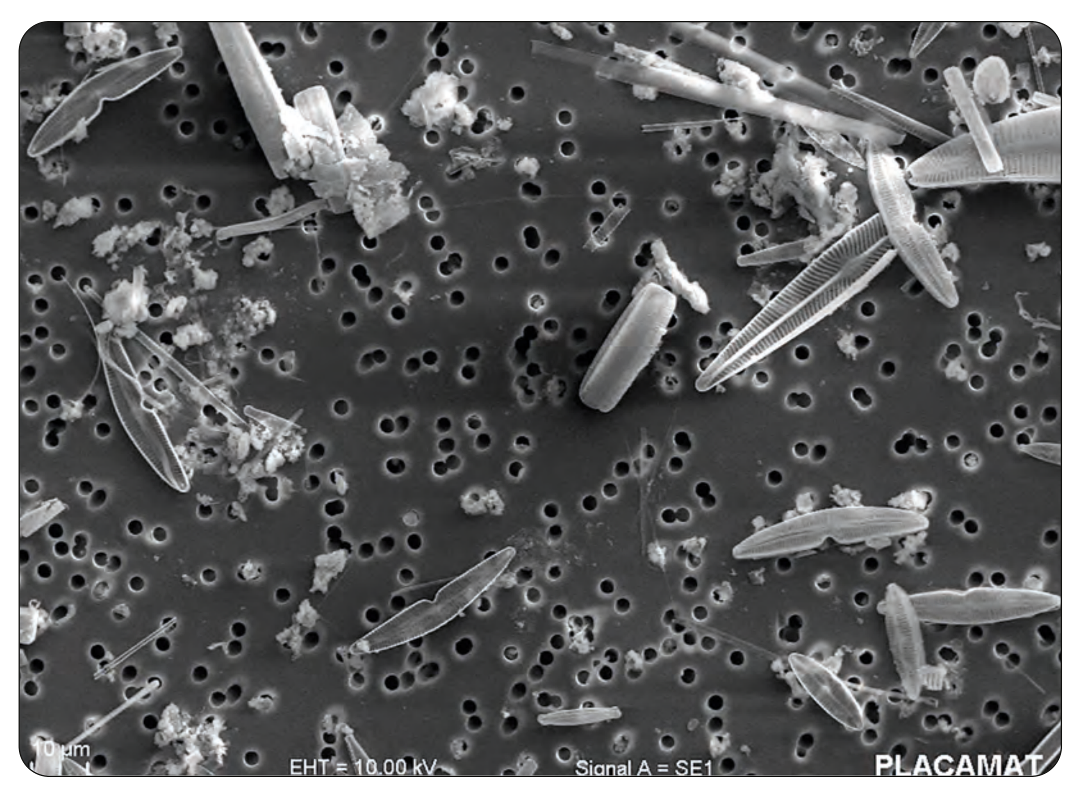
DEBtox : https://www.debtox.info/papers_debtox.html (consulté le 10 août 2022).

GUTS : https://www.ecotoxmodels.org/guts/ (consulté le 20 juin 2022).

GUTS/DEBtox : https://www.debtox.info/about_guts.html (consulté le 20 juin 2022).

MOSAIC : https://lbbe-shiny.univ-lyon1.fr/mosaic-bioacc/ (consulté le 20 juin 2022).

BLM : doi.org/10.1007/978-94-007-5704-2_23.




**Observation en microscopie électronique à balayage d'un échantillon de diatomées affectées par une pollution**.
Sur ce cliché, la présence d'anomalies morphologiques (tératologiques) comme les individus en forme de boomerang témoigne d'une exposition à un stress toxique. Les diatomées (ou Bacillariophycées) sont des microalgues unicellulaires abondantes dans les milieux aquatiques où elles forment souvent des biofilms. Elles présentent un exosquelette siliceux rémanent, dont la forme externe et les ornementations varient entre les espèces et permettent l'identification taxonomique. Les diatomées sont utilisées comme bioindicateurs de la qualité des eaux dans la directive-cadre européenne sur l'eau (DCE).

# 4. Pourquoi la relation de cause à effet est-elle si compliquée à montrer en milieu naturel ?

Les relations de cause à effet sont les plus difficiles à établir. *In natura**, on peut au mieux établir des corrélations statistiques entre données de contamination et observations de réponses d'organismes, mais ces relations mathématiques ne valent pas causalité. La plupart du temps la démarche écotoxicologique inclut une phase d'expérimentation en laboratoire pour valider des hypothèses.

## 4.1. PLUSIEURS RAISONS À LA DIFFICULTÉ D'ÉTABLIR DES RELATIONS CAUSALES

Tout d'abord, la présence de contaminants n'entraîne pas automatiquement l'absorption de ces contaminants par les organismes vivants. En effet, sous l'influence concomitante des paramètres physico-chimiques d'une substance et des caractéristiques du milieu, ladite substance peut être ou non biodisponible*, c'est-à-dire susceptible d'être absorbée par un organisme vivant. En l'absence d'absorption ou d'interaction, l'organisme n'est pas exposé au contaminant, et la présence du contaminant n'entraîne donc pas d'effet toxique direct.

Ensuite, lorsque l'organisme est exposé et que la substance est absorbée, se déroulent les phases suivantes de la toxicocinétique : la distribution de la substance dans les tissus et organes de l'organisme et sa bioaccumulation* éventuelle, puis sa biotransformation (ou métabolisation*), et enfin l'excrétion de tout ou partie de la substance.

Lorsque la substance ou ses produits de dégradation interagissent avec les biomolécules, différents mécanismes d'action s'opèrent. Suivant la nature des effets, les caractéristiques de l'espèce considérée et l'influence de facteurs externes (température, multi-stress), la dynamique de ces réponses biologiques est variable. Pour ces raisons, les effets toxiques peuvent se manifester à des moments différents, qu'il n'est pas toujours aisé d'anticiper. Il est donc possible de « manquer » une réponse, en particulier lorsque celle-ci est éphémère. Par exemple, les espèces réactives de l'oxygène sont couramment utilisées comme marqueur de stress oxydatif, toutefois elles peuvent passer inaperçues si la mesure est réalisée alors que le système antioxydant des cellules a déjà commencé à réagir.

Autre élément rendant les effets difficilement mesurables : la multiplicité des mécanismes d'action toxique. Les contaminants chimiques peuvent avoir différents effets délétères sur le vivant. Par exemple, rien que pour les insecticides, une trentaine de modes d'action différents est répertoriée dans le système de classification du Comité d'action contre la résistance aux insecticides, IRAC (Nauen *et al.*, 2019), sans parler de leurs potentiels effets non intentionnels sur les organismes non-cibles. Cette diversité d'effets n'est pas simple à identifier. Non seulement cela nécessite de multiplier les analyses pour identifier les systèmes biologiques qui sont impactés, mais en plus, il n'existe pas toujours d'outils de mesure adaptés à chaque mécanisme d'action toxique. Aussi, certains effets peuvent passer inaperçus, en particulier à l'échelle moléculaire ou cellulaire. Lorsque ces réactions entraînent une altération à l'échelle de l'individu, voire de la population*, alors la toxicité se mesure plus aisément, à condition d'avoir attendu un temps suffisant et adapté après l'exposition*. Pour tenir compte des potentiels effets différés des polluants, comme dans le cas des perturbateurs endocriniens, il est essentiel d'étendre la période d'évaluation à une phase post-exposition, qui peut inclure plusieurs générations, selon les impacts suspectés.

Néanmoins, il existe des mécanismes généraux de réparation ou de compensation (p. ex. réponse au stress cellulaire grâce au système antioxydant) qui permettent aux organismes de récupérer, dans certains cas, du dommage occasionné par un contaminant. Grâce à ces mécanismes, les effets produits à l'échelle infra-individuelle ne se répercutent pas sur la santé générale de l'individu. Si toutefois des effets sur les individus apparaissaient, ceux-ci n'entraîneraient pas nécessairement de conséquence sur la population.

En écotoxicologie, les enjeux sont, avant tout, de préserver la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes. Aussi l'échelle de la population est souvent considérée comme clé, l'idée sous-jacente étant que c'est la disparition d'une espèce qui peut engendrer des dysfonctionnements écologiques et des effets indirects sur d'autres espèces du biotope. Si l'on prend l'exemple de la dynamique des populations, la différence de réponse suivant les espèces est facilement compréhensible. Par exemple, si plusieurs moustiques meurent du fait d'un traitement insecticide, cela ne fait en aucun cas courir de risque à l'espèce, celle-ci ayant une reproduction efficace et un cycle de vie court. Il en serait tout autrement s'agissant d'une espèce mammifère.

Tester, au laboratoire, l'existence d'une relation simple et directe de cause à effet entre un contaminant et ses conséquences délétères sur un organisme vivant nécessite de se mettre dans des conditions où, toutes choses étant égales par ailleurs, seule la présence du contaminant peut être, sans ambiguïté, à l'origine de la réponse observée. Cependant, *in situ**, de nombreux processus viennent interférer dans cette relation. Ces processus se retrouvent souvent sous la dénomination de facteurs confondants, et se classent en deux catégories : biotiques et abiotiques (**figure 9**). Espèce, âge, patrimoine génétique, sexe, nutrition, interactions trophiques… sont autant de facteurs biotiques (relevant des organismes vivants) qui peuvent modifier la réponse d'un organisme à un contaminant. À cela, s'ajoutent les facteurs abiotiques qui correspondent aux conditions des milieux naturels : conditions physico-chimiques et climatiques, rayonnements UV, présence d'autres contaminants… Ces facteurs peuvent varier dans le temps et dans l'espace, et influer sur la réponse biologique induite par un contaminant.

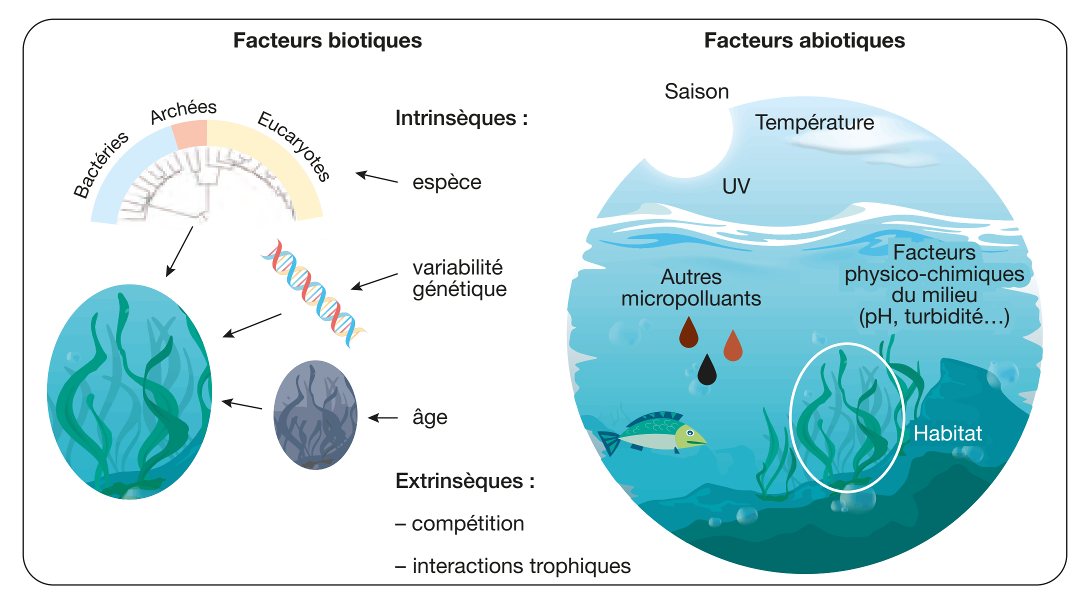



**Figure 9**. Facteurs biotiques (gauche) et abiotiques (droite) pouvant influencer la réponse d'une plante aquatique à un stress chimique.

Si l'organisme est par ailleurs exposé à un autre contaminant, un phénomène d'interactivité peut s'opérer, entraînant soit une additivité, soit une synergie, soit un antagonisme des effets engendrés par l'ensemble des contaminants (**figure 10**). Cette interaction rend la relation « exposition-effet » encore plus difficile à établir.

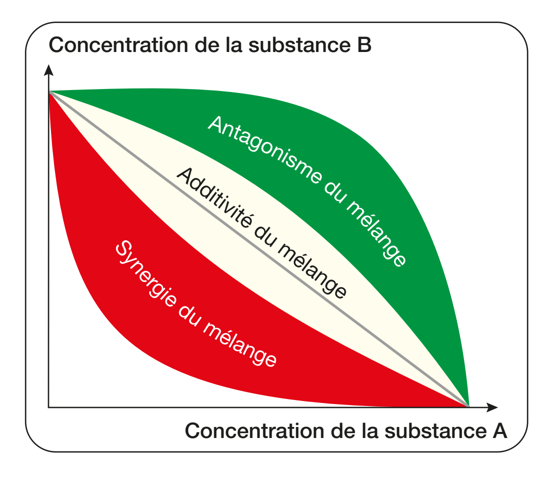



**Figure 10**. Représentation schématique (isobologramme) des trois types généraux d'interaction entre deux substances A et B. Chaque courbe ou droite représente la combinaison de concentrations de même toxicité (par exemple, la CE50). La droite noire (et son enveloppe blanche) représente l'isobole d'additivité, où l'effet du mélange A + B est égal à celui de la somme des effets individuels de A et de B ; la zone rouge indique une interaction synergique, où l'effet du mélange est plus fort que la somme des effets individuels de A et B ; la zone verte reflète l'antagonisme des deux substances (effet du mélange moins fort qu'attendu sous hypothèse d'additivité).

Dans le milieu naturel, les contaminants peuvent être modifiés sous l'action de facteurs physico-chimiques ou microbiologiques, entraînant la formation de métabolites. Ces produits de transformation peuvent également être à l'origine d'effets toxiques sur les organismes vivants. Toutefois, ils sont rarement identifiés du fait notamment de la multiplicité des métabolites pouvant se former et des limites analytiques pour les quantifier. Pour ces raisons, les effets mesurés chez les organismes *in situ* peuvent être induits par ces métabolites, et non par le contaminant initial étudié.

De même que les contaminants interagissent entre eux et avec les constituants du milieu naturel, les organismes vivants sont également interdépendants. Cela conduit à des effets dits indirects. Ils ne résultent pas de l'action toxique directe d'un contaminant sur un organisme, mais sont liés à une cascade d'effets qui touchent en premier lieu un organisme en interaction avec l'organisme étudié. Par exemple, lorsqu'un contaminant produit un effet toxique sur une algue, les consommateurs primaires de ces algues peuvent être indirectement impactés, du fait d'une perte de ressource alimentaire. Pour d'autres organismes, la disparition d'algues peut constituer une perte d'habitat. Ces effets indirects sont particulièrement difficiles à établir, car ils nécessitent une connaissance pointue de la structure et du fonctionnement de l'écosystème étudié, et des relations interspécifiques.

La complexité de l'organisation d'un écosystème est la principale raison de la difficulté à établir des relations de cause à effet entre la présence d'un contaminant et son impact écologique. L'écotoxicologie a privilégié l'étude des effets de contaminants sur la structure des communautés*, en posant l'hypothèse majeure que le maintien de cette structure assurerait le maintien de son fonctionnement. Aujourd'hui, les recherches tendent à établir les effets des contaminants sur les fonctions écologiques* remplies par les organismes vivants. Ces fonctions sont elles aussi soumises à de nombreuses variables qu'il convient de caractériser pour une évaluation plus fine des impacts. Plusieurs organismes vivants pouvant être capables de remplir les mêmes fonctions écologiques, des phénomènes de résilience ou d'adaptation peuvent s'observer. Là encore, la complexité des équilibres écosystémiques participe à la difficulté d'établir clairement les relations de cause à effet entre l'occurrence d'une pollution et l'apparition d'effets délétères à différents niveaux d'organisation biologique.

## 4.2. TRANSPLANTER *IN SITU* POUR MIEUX ÉVALUER LES RELATIONS ENTRE EXPOSITION ET IMPACT

Dans les sites où une contamination est avérée, on peut réaliser des expérimentations de « biomonitoring actif » pour confirmer l'impact de cette contamination sur les organismes et/ou identifier des descripteurs biologiques directement témoins de la présence de certains toxiques. Ce type d'approche peut être pratiqué dans une grande diversité d'écosystèmes et permet de prendre en compte la biodisponibilité* des contaminants présents qui constituent la fraction potentiellement toxique. Il permet aussi d'exposer des organismes calibrés (âge, taille, statut reproducteur, origine et variabilité génétique, etc.) dont l'historique d'exposition est connu, pour réaliser une interprétation de leur réponse robuste et sensible, tout en limitant l'influence de nombreux facteurs de confusion.

Par exemple, l'approche de biosurveillance active en milieu aquatique, basée sur l'utilisation de populations de gammares comme organismes sentinelles (méthode normalisée Afnor XP T90-721), lots calibrés d'individus préalablement maintenus au laboratoire dans des conditions contrôlées. Au terme de leur exposition sur site, les gammares sont collectés et divers paramètres de santé (consommation de nourriture, mortalité) et de bioaccumulation de contaminants dans le biote peuvent être déterminés. Ces résultats sont ensuite confrontés à un référentiel national de données permettant une interprétation de l'état écotoxicologique des sites suivis. Pour le suivi de la qualité de l'air, l'approche de biosurveillance active basée sur l'utilisation de végétaux comme le tabac Bel-W3, en tant qu'espèce sentinelle (méthode normalisée Afnor NF EN 16789), s'appuie sur l'implantation *in situ* de plants de tabac cultivés en laboratoire. Au terme de leur exposition sur site, les nécroses foliaires, caractéristiques de l'exposition à l'ozone atmosphérique, sont quantifiées en surface, ce qui permet une estimation du niveau relatif d'ozone présent dans l'air.

D'autres approches de « translocation », basées sur la colonisation *in situ* d'organismes autochtones ensuite déplacés dans un contexte plus ou moins pollué, permettent, selon le sens du transfert, de mesurer soit l'ampleur de l'impact seul de la source de contamination suspectée sur les organismes (transfert d'un site de référence à un site contaminé), soit la réversibilité de l'impact (transfert d'un site contaminé à un site de référence). Ces approches ont été mises en œuvre par exemple avec des biofilms (communautés microbiennes aquatiques) ayant poussé sur des substrats artificiels (lames de verre ou membranes plastiques). Le transfert de substrats colonisés depuis l'amont d'une contamination vers l'aval permet d'évaluer les impacts, structurels et fonctionnels, que pourrait avoir une contamination ponctuelle (plus ou moins durable) sur des communautés matures non exposées préalablement. À l'inverse, la translocation de biofilms établis dans des conditions contaminées vers l'amont permet d'évaluer la durée nécessaire à la récupération des communautés (retour à une structure et un fonctionnement « de référence ») à la suite d'une levée de pression toxique.

## 4.3. TESTER *EX SITU* POUR CONTRÔLER CERTAINS FACTEURS

L'intérêt des approches *in situ* peut être limité lorsque le « bruit de fond » est trop élevé, c'est-à-dire lorsque les facteurs environnementaux (température, turbidité de l'eau, humidité d'un sol…) provoquent, chez les organismes exposés, un stress d'importance significative en comparaison avec celui généré par les contaminants. Un moyen de contourner cela est l'expérimentation *ex situ**. Elle consiste à prélever un échantillon du milieu à évaluer (eau de rivière, sol ou sédiment), puis à exposer un organisme modèle dans un dispositif adapté en laboratoire qui permet de réguler les paramètres comme la température ou le cycle jour/nuit. Dans cette approche, une vigilance particulière doit être apportée à la méthode de prélèvement, au transport et à la conservation des échantillons avant leur utilisation expérimentale.

## 4.4. LIER EFFETS SUR LE BIOTE (ÉTAT ÉCOLOGIQUE) ET PRÉSENCE DE COMPOSÉS TOXIQUES (ÉTAT CHIMIQUE)

La détection de composés toxiques dans un environnement peut être non représentative de la contamination globale notamment parce que certains composés toxiques peuvent être non ciblés dans l'analyse chimique (en particulier les produits de transformation inconnus). Deux approches sont actuellement disponibles pour identifier les substances responsables de la toxicité dans un mélange complexe de contaminants. Ces approches se déclinent en 3 étapes :

1. démonstration et caractérisation d'une toxicité significative dans l'échantillon à l'aide d'un test de toxicité initial ;
2. identification des causes de toxicité ;
3. confirmation des résultats.

L'*Effect-Directed Analysis* ou EDA (Brack, 2003 ; Burgess *et al.*, 2013), que nous avons déjà citée comme approche pour tenir compte de la complexité du terrain, vise à détecter les substances chimiques impliquées dans la toxicité des échantillons naturels. L'approche est séquentielle pour établir des relations de cause à effet avec des réductions progressives de la complexité du mélange par fractionnements successifs. L'EDA requiert l'utilisation de tests de toxicité sensibles à haut débit, généralement des essais biologiques *in vitro* (tests sur des lignées cellulaires), et plus rarement *in vivo*. La toxicité du mélange est caractérisée, puis le même test est réalisé sur les fractions du mélange. Dès qu'une fraction spécifique est identifiée comme responsable de (ou hautement contributive à) la toxicité observée, une analyse non ciblée et une élucidation structurelle peuvent être menées pour identifier et quantifier les composés suspectés d'être bioactifs. Une étape finale de confirmation est effectuée pour valider les substances candidates comme étant à l'origine de la toxicité mesurée. Les étapes de fractionnements successifs peuvent toutefois modifier la biodisponibilité des contaminants.

L'autre approche, appelée *Toxicity Identification Evaluation* ou TIE (US EPA, 1991), consiste à identifier les substances toxiques actives pour des niveaux supérieurs de complexité biologique, en général des descripteurs de l'organisme entier. Après démonstration d'une toxicité significative du mélange, les classes potentielles de substances toxiques provoquant la toxicité observée dans le test initial sont évaluées. Dans le TIE, la biodisponibilité des substances toxiques est maintenue (tests à différents pH) et est considérée comme cruciale pour identifier précisément les causes de la toxicité environnementale. Sur la base de ces résultats, la détermination des substances à l'origine de la toxicité observée se concentre sur l'identification de contaminants spécifiques au sein de la classe de substances suspectée, en combinaison avec une analyse chimique. Enfin, la confirmation des résultats des phases précédentes exploite des sources de données indépendantes, en testant par exemple un milieu dopé avec le toxique suspecté, à la même concentration que dans le mélange réel.

En matière d'évaluation de la toxicité, il existe donc une relation négative entre le degré de complexité des conditions de test et la pertinence écologique des estimations. En effet, il semble difficile de considérer qu'une daphnie exposée individuellement à un polluant dans un tube à essai puisse représenter la complexité écologique du milieu naturel. Cependant, il existe aussi un compromis entre cette complexité et notre capacité à montrer une relation de cause à effet (compromis pertinence/fiabilité, ou *relevance/reliability*). Dans ce cadre contraint, des approches expérimentales permettant de tester en conditions contrôlées (autres facteurs environnementaux, autres caractéristiques biologiques et génétiques des organismes testés) et statistiquement puissantes (nombre de réplicats nécessaires calculé au préalable) des hypothèses fondées sur des données du milieu naturel (contamination mesurée, présence d'espèces indicatrices) semblent les plus pertinentes. De même, les approches fondées sur la transplantation d'organismes modèles dans différents milieux peuvent, lorsque possibles, s'avérer très informatives. Enfin, les outils de modélisation, utilisés de façon complémentaire ou préalable aux études, restent indispensables pour une meilleure intégration de la complexité.

## 4.5. ENTRE RECHERCHE ET APPLICATION À L'ÉVALUATION DES RISQUES

L'écotoxicologie s'est d'abord intéressée au développement d'indicateurs en lien avec des travaux à l'échelle biologique de l'individu. Mais pour l'évaluation des risques* écologiques (*Ecological Risk Assessment* ou ERA*), il faut dépasser le niveau individuel. Les recherches ont alors été orientées vers l'agrégation de données pour la construction de modèles, comme ceux du type SSD* (*Species Sensitivity Distributions*, Del Signore *et al.*, 2016). Ces modèles sont utilisés pour extrapoler les tests de toxicité aux échelles individuelles vers des seuils de toxicité supposés protecteurs de la structure des écosystèmes et de leur fonctionnement. L'hypothèse sous-jacente est que la sensibilité de l'écosystème dépend de l'espèce la plus sensible. Il s'agit de construire des courbes de distribution de sensibilité* incluant plusieurs espèces à partir de données de sensibilité spécifique obtenues en laboratoire. Chaque point d'une courbe SSD représente une donnée écotoxicologique de sensibilité d'une espèce pour une substance donnée. Avec l'hypothèse forte que toutes les espèces ont un poids identique au sein de la distribution (donc un poids écologique équivalent au sein du système), ces courbes sont exploitées pour obtenir des seuils de protection des écosystèmes. On calcule ainsi des valeurs du type HC5 (*hazardous concentration*) qui décrivent une concentration à risque pour 5 % des espèces et donc protégeant 95 % des espèces représentatives de l'environnement étudié. Cependant ces courbes ne sont pas faciles à construire, et sont encore peu utilisées dans le domaine de la réglementation. De plus, ces modèles SSD ont été développés en premier dans les milieux aquatiques et il y a encore peu de données disponibles pour le milieu terrestre. Enfin, ces modèles sont construits sur des bases statistiques et taxonomiques, sans lien direct avec les fonctions assurées par ces organismes, et avec l'hypothèse sous-jacente que le maximum de biodiversité est requis pour une bonne qualité de l'écosystème.

De nombreuses autres approches ont été développées (Ineris, 2016), comme l'approche par le mode d'action (MoA, *Mode of Action*) ou l'approche utilisant le concept des AOP, citées précédemment, ou encore les approches par paliers (ou par étages, les *tiered approaches*), qui correspondent à une stratégie en plusieurs étapes. La première consiste à s'intéresser aux données disponibles dans la littérature sur la, ou les, substance(s) afin de recueillir une preuve de toxicité. Cette démarche est appelée *Weight of Evidence* (WoE). Mais si aucune donnée n'est probante ou que les données sont contradictoires, il faut alors engager des tests permettant *in fine* de considérer l'ensemble des outils et informations disponibles pour l'évaluation des risques et la réglementation. L'approche Triade, qui se base sur les trois piliers, chimie, biologie et écologie avec des paliers dans chacun de ces domaines, est en continuité avec l'ensemble de ces méthodes. Finalement, elles sont très proches et correspondent à des évolutions méthodologiques des concepts qui permettent de mieux cadrer leur application, et, souvent, de renforcer leur pertinence pour la réglementation en prenant en compte de surcroît les évolutions concernant les méthodes *in silico**.

Pour ces dernières, on note le développement d'outils pour décrire la toxicité des milieux, mis désormais à la disposition de chacun de façon libre et téléchargeable, et utilisant des données d'entrée décrivant simplement les conditions de milieu. Ces modèles ont été élaborés à partir des différentes approches citées plus haut, et comportent en ce sens des avantages, mais aussi des limites (données non disponibles p. ex.) qui sont clairement indiquées en introduction, et qu'il convient de bien prendre en compte. On peut citer, parmi les outils les plus utilisés pour le milieu aquatique, *Species at risk* ou SPEAR, qui relie la contamination des milieux et la composition des communautés d'invertébrés aquatiques. L'approche est basée sur les travaux concernant les traits* spécifiques d'espèces sensibles : traits de vie, comportement, physiologie et est applicable à différentes zones climatiques et différentes qualités d'eau. Une « valeur SPEAR » est calculée et fournit l'abondance relative des espèces sensibles.

L'équivalent pour le milieu terrestre correspond à l'outil « PNEC* *calculator* », qui utilise la notion de biodisponibilité dans la modélisation ainsi que toutes les données disponibles de la

littérature concernant les valeurs seuils pour différents organismes (plantes, invertébrés, processus microbiens). Un calcul de facteurs de risques écologiques est alors effectué, adapté à différents types de sol et pour différents éléments en traces. Les données d'entrée sont les teneurs en fond pédogéochimique des éléments en traces, le pH, le pourcentage de matière organique et d'argile ainsi que la capacité d'échange cationique effective des sols. L'outil prédit la fraction d'espèces terrestres susceptible d'être affectée par la concentration en contaminants du milieu.

## À RETENIR

La corrélation entre données issues de l'environnement ne vaut pas causalité. Il faut pouvoir montrer qu'un contaminant présent dans l'environnement est effectivement la cause de l'effet observé, et donc avoir éliminé tous les effets confondants qui correspondent à des paramètres susceptibles d'induire également des effets néfastes. La toxicité d'une substance dépend de l'organisme cible, de la disponibilité* de la substance dans le milieu en question et de l'exposition de l'organisme à cette substance. La biodisponibilité de cette substance à la suite d'une exposition entraîne un effet toxique qui s'exprime à différentes échelles biologiques, spatiales et temporelles. Au travers de différentes approches chimiques, biologiques ou écologiques, l'évaluation des risques vise à prendre en compte la complexité des interactions entre substances et entre organismes.



**Échasse blanche sur son nid avec un jeune déjà éclos – bassin d'Arcachon**.
Les échasses blanches mangent des crustacés, des mollusques, des insectes et des larves aquatiques. Une contamination des habitats aquatiques entraîne une contamination des mères qui peut se transmettre aux générations suivantes.

### Références

Afnor, 2016. NF EN 16789 : *Air ambiant – Biosurveillance à l'aide de plantes supérieures – Méthode de l'exposition normalisée du tabac*, 37 p.

Afnor, 2019. XP T 90-721 : *Qualité de l'eau – Encagement* in situ *de gammares pour la mesure de la bioaccumulation de substances chimiques*, 27 p.

Brack W., 2003. Effect-directed analysis: a promising tool for the identification of organic toxicants in complex mixtures?, *Analytical and Bioanalytical Chemestry*, 377 (3), 397-407, doi.org/10.1007/s00216-003-2139-z.

Burgess R.M., Ho K.T., Brack W., Lamoree M., 2013. Effects-directed analysis (EDA) and toxicity identification evaluation (TIE): Complementary but different approaches for diagnosing causes of environmental toxicity, *Environmental Toxicology and Chemestry*. 32 (9), 1935-1945, doi.org/10.1002/etc.2299.

Del Signore A., Hendriks A.J., Lenders H.J.R., Leuven R.S.E.W., Breure A.M., 2016. Development and application of the SSD approach in scientific case studies for ecological risk assessment, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 35 (9), 2149–2161, doi.org/10.1002/etc.3474.

Ineris, 2016. *Note « Méthodes et outils émergeants d'évaluation des dangers* », Ref : DRC-16-156196-06372A, 12 p., https://www.ineris.fr/sites/ineris.fr/files/contribution/Documents/moa-aop-its-aop-drc-16-156196-06372a-mise-en-ligne-1473689429.pdf (consulté le 17 juin 2022).

Nauen R., Slater R., Sparks T.C., Elbert A., Mccaffery A., 2019. IRAC: Insecticide Resistance and Mode-of-action Classification of Insecticides, *in* Jeschke P., Witschel M., Krämer W., Schirmer U. (éd.), *Modern Crop Protection Compounds,* Volume 3 : Insecticides, 3e édition révisée et complétée, Chap. 28, doi.org/10.1002/9783527699261.ch28.

US Environmental Protection Agency, 1991. *Methods for aquatic toxicity identification evaluations: Phase I toxicity characterization procedures*, 2de édition, EPA-600-6-91-003, Office of Research and Development, Duluth, MN, 87 p.

### Pour en savoir plus

Utilisation des bioessais :

https://www.centreecotox.ch/news-publications/actualites/l-utilisation-des-bioessais-pour-le-monitoring-environnemental/ (consulté le 17 juin 2022).

Méthode SPEAR (*Species at Risk*) : https://www.ufz.de/index.php?en=38122 (consulté le 17 juin 2022).

Méthode *Soil PNEC calculator* : https://www.arche-consulting.be/tools/soil-pnec-calculator/ (consulté le 17 juin 2022).

Méthodes statistiques :

Girondot M., Guillon J.-M., 2018. Comment obtenir des résultats significatifs dans vos études écotoxicologiques : un guide pratique, Fiche thématique nº 14, 6 p., https://www6.inrae.fr/ecotox/content/download/5143/59641/version/1/file/18-Fiche-Stats.pdf (consulté le 17 juin 2022).

Posthuma L., Suter II G.W., Traas T.P. (éd.), 2002. *Species Sensitivity Distributions in Ecotoxicology*, Lewis Publishers, 590 p.

# 5. Quelles différences entre écotoxicologie aquatique et terrestre ?

## 5.1. SPÉCIFICITÉS DES MILIEUX AQUATIQUE ET TERRESTRE

Si milieu terrestre et milieu aquatique sont en interconnexion, ces milieux ont des spécificités liées à leur nature et à la biodiversité qu'ils hébergent.

Représentant 75 % de la surface de la planète, les milieux aquatiques sont particulièrement variés, que ce soit en matière de salinité (eaux douces, saumâtres, marines), de typologie (milieux lentiques *vs* lotiques) ou de connectivité (réseaux hydrographiques dendritiques, mares interconnectées, milieux estuariens, haute mer). En lien avec cette hétérogénéité, les systèmes aquatiques hébergent une très grande diversité biologique, recouvrant l'ensemble de l'arbre du vivant. Les milieux aquatiques varient également en niveau d'anthropisation, allant des milieux totalement naturels (cours d'eau et lacs de montagne, nappes, eaux profondes des océans…) jusqu'à des étangs et plans d'eau artificiels, canaux ou fossés.

Comparativement, les conditions de vie terrestre impliquent deux catégories très distinctes de milieux : les sols et l'atmosphère. Les sols sont également très variés avec des propriétés physiques et chimiques très diverses, résultats de l'évolution pédoclimatique. Milieux triphasiques, ils incluent de l'eau sous forme de solution du sol, qui peut migrer par gravité vers les nappes superficielles. Du point de vue biologique, on y distingue les organismes occupant exclusivement le sol, en profondeur ou dans sa couche la plus superficielle (espèces endogées et épigées : micro-organismes, invertébrés, espèces cavernicoles) ; les organismes dont le mode de vie est aérien ou « exogé » (par exemple les insectes volants, divers vertébrés terrestres) ; et les organismes qui occupent les deux milieux, de façon permanente (plantes vasculaires) ou transitoire (insectes qui ont un stade larvaire souterrain et un stade adulte aérien, comme les hannetons). Si l'atmosphère peut être considérée comme un compartiment naturel dans lequel les contaminants se diluent, les sols sont eux soumis à une forte anthropisation, avec des perturbations importantes liées à l'usage agricole ou sylvicole (labour, drainage) allant jusqu'à la construction de sols (anthroposols ou technosols), notamment en milieu urbain.

Dans ces milieux, phases solide et liquide sont en interaction, mais leurs proportions relatives sont inversées. Le milieu aquatique est souvent considéré comme plus homogène que le sol. Si cela est vrai pour la colonne d'eau, il ne faut cependant pas ignorer l'interface avec le sédiment. Les processus biogéochimiques se réalisant dans les sédiments sont assez proches de ceux d'un sol saturé en eau. Dans les sols et les sédiments, les contaminants peuvent s'accumuler ou être transformés (changement de spéciation*, dégradation, métabolisation*). Les échanges entre le sédiment et l'eau ou entre le sol et la solution du sol contrôlent le devenir et la toxicité des contaminants.

La pression de contamination volontaire ou dirigée est généralement plus forte en milieu terrestre qu'en milieu aquatique. C'est typiquement le cas des produits phytopharmaceutiques, dont l'utilisation vise majoritairement des espèces terrestres (ravageurs et pathogènes). À l'inverse, la pression chimique environnementale induite de façon non intentionnelle semble globalement plus forte sur les milieux aquatiques que sur les autres milieux. Cette pression est largement alimentée par l'industrie et ses rejets, par l'usage par la population humaine des produits ménagers, médicaments et produits vétérinaires, du plastique, etc.

Les différences les plus importantes entre milieu terrestre et aquatique concernent les organismes vivant dans ces environnements dont la physiologie, le comportement, le mode de vie, les voies de contamination sont très différents.

## 5.2. PRINCIPALES DIFFÉRENCES DANS LES APPROCHES ÉCOTOXICOLOGIQUES

L'écotoxicologie s'intéresse à ces différents milieux, toutefois écotoxicologie aquatique et écotoxicologie terrestre ont été traditionnellement considérées séparément.

Les premières alertes environnementales ont concerné le milieu aquatique, qui est le réceptacle ultime des contaminants, tandis que la contamination des sols est devenue une préoccupation environnementale plus récemment. Historiquement, les concepts de l'écotoxicologie ont donc été développés pour le milieu aquatique pour être ensuite transposés au milieu terrestre. Si l'écotoxicologie terrestre est dans l'ensemble moins développée que son équivalent aquatique, les sols en restent néanmoins les principaux objets d'étude, par comparaison au milieu aérien.

Tout en reposant sur les mêmes concepts, les méthodes de quantification des contaminants diffèrent selon les matrices et les milieux. L'analyse des contaminants dans les matrices solides requiert un plus grand nombre d'étapes de préparation/extraction des échantillons que dans les matrices aqueuses/liquides. C'est l'une des raisons qui explique que l'avancée des travaux sur les sols soit relativement plus modeste que celle traitant des milieux aquatiques, dans lesquels les contaminants sont plus facilement détectés. En effet, l'eau a une capacité importante de mise en solution, émulsion ou suspension de nombreux polluants (Ramade, 1998). Lorsque de nouveaux contaminants sont synthétisés et apparaissent dans l'environnement, ils font souvent d'abord l'objet de recherches en milieu aquatique. C'est le cas actuellement des nanoparticules ou des micro- ou nano-plastiques, plus facilement détectables et quantifiables en milieu aqueux qu'en matrice solide.

Le milieu aquatique héberge de nombreux organismes filtreurs, qui vont directement être en contact avec les contaminants solubilisés ou en suspension et les accumuler rapidement du fait des volumes d'eau concernés. Ces organismes ont été parmi les premiers modèles d'étude de l'écotoxicologie et dans les biotests réglementaires.

La réglementation a également concerné différemment les milieux aquatiques et terrestres. La directive-cadre sur l'eau, prise au niveau européen, établit une liste de substances préoccupantes et donne des objectifs qualitatifs pour les eaux. Par contraste, il n'existe toujours pas de réglementation sur la qualité ou la santé des sols. Dans la même ligne, la réglementation des substances chimiques, qui requiert une évaluation de la toxicité pour les organismes aquatiques et terrestres, peut être allégée pour les seconds si l'exposition* *via* les sols est improbable (mais elle reste obligatoire pour les pesticides).

## 5.3. FLUX ET STOCK DE CONTAMINANTS DANS LES MILIEUX AQUATIQUE ET TERRESTRE

Les propriétés physico-chimiques intrinsèques des milieux contaminés et des substances elles-mêmes (hydrophobicité, propriétés d'adsorption) conditionnent leur présence et leur persistance. Dans le cas de pollutions ponctuelles de type accidentelle (ex. : accident de Lubrizol ou de Tchernobyl), la présence des micropolluants est plus transitoire dans l'eau et dans l'air que dans des matrices solides comme les sols ou les sédiments. Ceux-ci peuvent ainsi « enregistrer » l'événement contaminant. Il est possible, en utilisant des milieux non perturbés par la bioturbation (archives sédimentaires, carottes de tourbe, etc.), de reconstituer des historiques de contamination. Ces milieux enregistrent également les niveaux de contamination diffuse des eaux et de l'atmosphère. Ainsi, l'analyse de sédiments dans des lacs suédois a permis de reconstituer les apports en plomb atmosphériques sur une période de 4 000 ans, démontrant une contamination datant déjà de la période de l'Empire romain (Renberg *et al.*, 2002).

L'eau est un vecteur de contaminants, depuis l'amont vers l'aval des cours d'eau ou, dans les sols, depuis la surface vers la profondeur et les nappes. Les compartiments pédologique

et sédimentaire sont, eux, considérés comme des milieux accumulateurs des substances. Ils agissent comme des puits pour les contaminants, mais ils ont aussi la capacité de les relarguer, agissant alors comme des sources. Concernant la fonction de puits, le réservoir peut stocker, sur de longues durées, certains contaminants rémanents. Ainsi, des molécules interdites d'usage depuis plus d'une dizaine d'années se retrouvent encore dans les sols (ex. de l'atrazine ou du lindane) ou les sédiments (cas des PCB dans les sédiments du Rhône). Ces réservoirs peuvent libérer dans le milieu aqueux (solution du sol ou colonne d'eau) des contaminants stockés ou des produits de transformation de molécules xénobiotiques*, agissant ainsi comme une source secondaire de contamination. Certaines conditions favorisent cette libération dans le milieu aqueux. Les phénomènes de dragage de sédiments et de curage de barrage peuvent ainsi remettre en suspension les contaminants initialement stockés dans le sédiment (Blanc *et al.*, 2006). Lorsque la matière organique des sols ou des sédiments est minéralisée, on observe une libération des substances initialement adsorbées et stockées. Et, d'une façon générale, tout changement des conditions du milieu qui favorise les échanges dans le sens phase solide vers phase liquide participera au rôle de source de contaminants des sols ou des sédiments.

Les substances accumulées dans un sol à partir d'une pollution apportée par voie atmosphérique (ex. un traitement de parcelle par des pesticides) peuvent être relarguées par drainage ou par ruissellement (pluies) et rejoindre les milieux aquatiques environnants. Ceux-ci jouent ainsi le rôle de réceptacles finaux de diverses substances, tandis que les milieux terrestres jouent celui de source secondaire. Ce rôle concerne en particulier les milieux stagnants, tels que les mares et les fossés des paysages agricoles. Une fois dans l'eau de ces milieux, certaines substances peuvent par exemple, selon leurs propriétés, persister en solution ou s'accumuler dans les sédiments, entrer en contact avec les organismes vivants et s'accumuler au sein de leurs tissus (ex. composés lipophiles stockés dans les tissus adipeux) ou sur d'autres matrices biologiques (ex. coquilles et exosquelette d'invertébrés), ou encore être dégradées de façon abiotique ou par les systèmes de détoxication biologique.

La complexité des processus affectant la dynamique et le devenir des contaminants et leur transfert dans les milieux naturels a été évoquée de façon récurrente dans ce chapitre. Face à une telle complexité, la nécessité de dépasser le stade de l'observation ou de la description est apparue comme un des changements de paradigme écotoxicologique. À l'échelle d'un paysage, la modélisation des flux représente un des éléments clés pour atteindre cet objectif. Elle est largement appliquée au contexte agricole, dans des paysages où sont imbriqués agrosystèmes et écosystèmes naturels.

## 5.4. DES MILIEUX CONNECTÉS

Le milieu terrestre et le milieu aquatique s'inscrivent dans une continuité naturelle, *via* l'érosion superficielle des sols ou les processus de lessivage* ou lixiviation* d'éléments ou de particules vers les nappes superficielles, en connexion avec les aquifères de surface, ou encore *via* l'atmosphère (aérosols, envols de poussières, dérive aérienne de particules) [**figure 11**].

Les transferts de contaminants des sols vers les milieux aquatiques se font par érosion superficielle et lessivage/lixiviation dans les sols. Un hotspot de pollution au niveau terrestre peut ainsi contaminer tout un réseau aquatique. Par exemple, il a été montré que 60 à 75 % de la contamination à l'embouchure de la Gironde provenait d'un seul site pollué autour de la zone métallurgique de Decazeville et de ses terrils, 350 km en amont (Blanc *et al.*, 2006).

L'eau est un vecteur important de contaminants et de leur propagation le long du continuum terrestre/aquatique. Des flux du milieu aquatique vers le milieu terrestre interviennent aussi de manière naturelle lors de crues, ou sont provoqués par les humains du fait de l'irrigation des sols. Ainsi, au Japon, un cas célèbre de pollution au cadmium, qui s'est traduit par de graves impacts sur la santé humaine (maladie Itai-Itai) au début du XX^e siècle, est le résultat

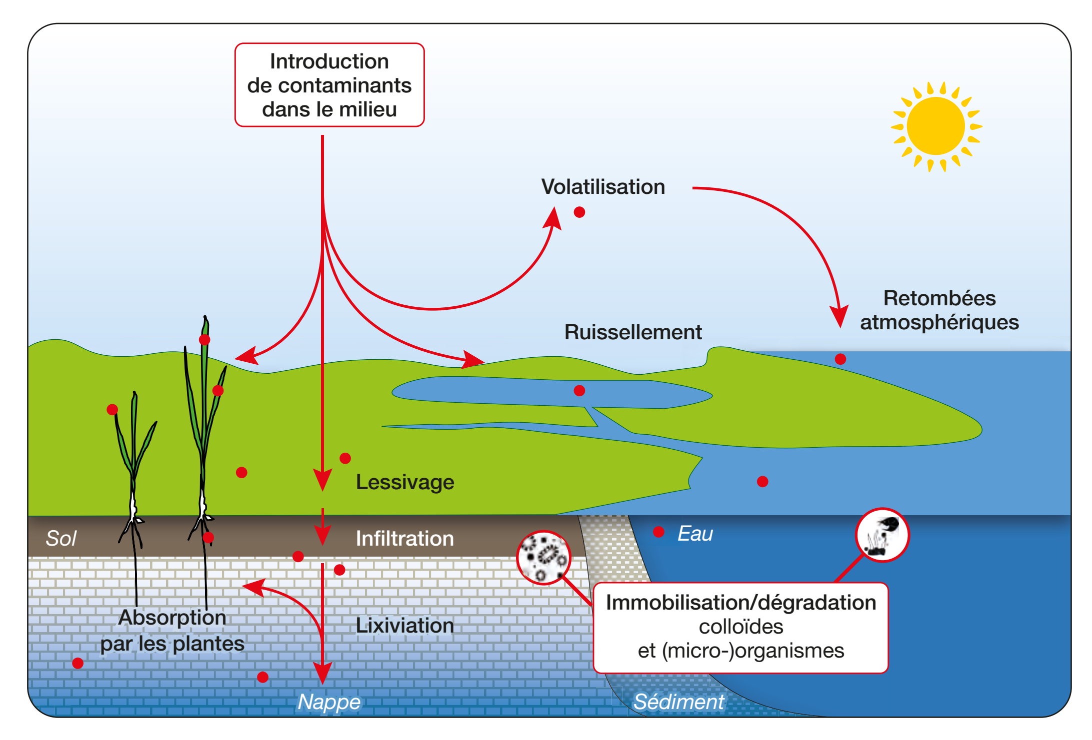



**Figure 11**. Principales voies de transfert des contaminants entre le sol, l'atmosphère et les milieux aquatiques.

de l'irrigation de rizières avec de l'eau contaminée. Lorsque des sédiments sont épandus sur les sols (ex. boues de curage de canaux ou de barrage), on transfère une potentielle contamination du milieu aquatique vers le milieu terrestre. Aujourd'hui, cette pratique est réglementée, l'épandage de boues de curage ne pouvant se faire qu'après démonstration de leur innocuité.

Certains organismes réalisent leur cycle de vie dans les deux milieux. Par exemple, de nombreux ordres d'insectes (odonates, éphéméroptères, trichoptères, plécoptères, certains diptères) commencent leur vie en milieu aquatique (stades larvaires benthiques ou nectoniques) et la terminent en milieu terrestre (stade imaginal, dévolu à la reproduction). Ces organismes contribuent ainsi de façon non négligeable au transfert, du milieu aquatique vers le terrestre, de matière organique, mais aussi de substances bioaccumulables, comme les éléments traces* métalliques. Les conséquences écologiques de ces transferts se mesurent à l'échelle des réseaux trophiques*. Par ailleurs, les espèces terrestres prédatrices d'organismes aquatiques, comme les oiseaux limicoles ou plongeurs (**figure 12**) ou certains mammifères (loutres, ragondins…), sont exposées à la pollution aquatique à la fois par contact direct avec le milieu et par voie trophique.



**Figure 12**. Alcyon pie mangeant un poisson.

Enfin, une particularité notable de la contamination atmosphérique est qu'elle touche à la fois le milieu aquatique et le milieu terrestre par les dépôts qu'elle engendre. La dispersion des contaminants peut se faire sur de grandes distances, et ce d'autant plus que les particules transportées sont fines (composés volatils, radioéléments, micro- ou nano-particules).

Ces connexions et interdépendances entre milieu aquatique et terrestre mettent en avant la nécessité de travaux conjoints et d'approches transversales, pour une meilleure compréhension des effets toxiques des contaminants sur l'environnement dans son ensemble.

## À RETENIR

Fondamentalement, il y a peu de différences entre les démarches d'écotoxicologie aquatique et terrestre, car les mêmes concepts sont partagés. En revanche, les différences sont notables concernant l'importance relative des processus physico-chimiques (accumulation, biodisponibilité*, dégradation) et les objets d'étude (modèles biologiques, fonctions écologiques*). Malgré leurs différences structurelles, les milieux terrestres et aquatiques sont connectés et forment un continuum le long duquel s'opère le transfert de matières et de contaminants, mais aussi d'organismes vivants.

### *Références*

Blanc G., Schäfer J., Audry S., Bossy C., Lavaux G., Lissalde J.-P., 2006. Le cadmium dans le Lot et la Garonne : sources et transport, *Hydroécologie Appliquée*, 15, 19-41, doi.org/10.1051/hydro:2006005.

Ramade F., 1998. *Dictionnaire encyclopédique des sciences de l'eau*, Paris, Édiscience, 786 p.

Renberg I., Brännvall M.L., Bindler R., Emteryd O., 2002. Stable lead isotopes and lake sediments—a useful combination for the study of atmospheric lead pollution history, *Science of the Total Environment*, 292 (1-2), 45-54, doi.org/10.1016/S0048-9697(02)00032-3.



**Libellule sympetrum.**
Les libellules font partie des insectes qui vivent à l'interface entre l'eau et le milieu terrestre : en milieu aquatique à l'état larvaire, puis terrestre à l'âge adulte. Leurs milieux de vie sont les étangs, les marais ou les bords des cours d'eau. Les libellules participent à la régulation des écosystèmes aquatiques : leurs larves sont des prédateurs s'attaquant à de petits insectes, des alevins ou des têtards, tandis que les adultes se nourrissent exclusivement de petits insectes. La dégradation de leurs habitats et la pollution sont les principales causes de leur déclin au niveau régional, où elles sont considérées comme un des indicateurs de la biodiversité.

# 6. À quoi sert l'écotoxicologie pour la société ?

Depuis les années 1960 et le développement de l'industrie chimique, plusieurs catastrophes environnementales majeures ont mis en avant les impacts délétères des pollutions sur la faune sauvage, ainsi que sur les humains. Le premier accident écologique étudié fut celui du « Clear Lake » en Californie, résultant de l'utilisation massive d'un insecticide organochloré, le DDD, pour désinsectiser une zone de baignade. De façon concomitante au traitement, les colonies de grèbes qui peuplaient cette zone ont été décimées alors que les teneurs de l'insecticide dans les eaux restaient faibles. Hunt et Bischoff (1960) ont montré que celui-ci s'accumulait dans les différents niveaux de la chaîne trophique, pour atteindre, dans les graisses des grèbes — les consommateurs finaux —, des niveaux de dix à cent mille fois ceux mesurés dans les eaux. Puis, en Europe et en Amérique du Nord, on a rapporté la disparition de rapaces (éperviers, faucons) dans les régions agricoles où avaient été utilisés des insecticides organochlorés (DDT, aldrine, dieldrine…). Là encore, le phénomène de bioamplification* dans les chaînes trophiques terrestres a été reconnu responsable de problèmes de reproduction des oiseaux et de chute démographique.

## 6.1. ÉCOTOXICOLOGIE ET RÉGLEMENTATION

En étudiant les modalités de contamination de l'environnement par les polluants chimiques, ainsi que leurs mécanismes de transfert et d'effet sur les êtres vivants à différents niveaux d'organisation biologique, l'écotoxicologie apporte des connaissances scientifiques. Mais elle a d'autres conséquences. Sur le plan politique, en France, l'année 1971 voit la création du ministère de l'Environnement. Puis la législation française sur l'environnement se structure, avec notamment la loi du 22 décembre 1972 (modifiant la loi de 1943) sur l'homologation des produits antiparasitaires. Elle impose une autorisation préalable à leur utilisation délivrée par le ministère de l'Agriculture. Enfin, le 19 juillet 1976 paraît la loi sur les installations classées pour la protection de l'environnement.

La réglementation européenne a ensuite relayé les États membres en éditant deux directives fondamentales relatives à la sécurité chimique :

– la directive 79/117/CEE du 21 décembre 1978 sur l'interdiction à partir de 01/01/1981 de produits phytosanitaires contenant les insecticides organochlorés et les fongicides alkyl- et aryl-mercuriels ;

– la directive 79/831/CEE amendant la 6e directive 67/548/CEE sur la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances chimiques, qui impose la constitution d'un dossier de notification pour les substances chimiques nouvelles à partir du 18 septembre 1981.

En 1976, la catastrophe industrielle de Seveso au nord de l'Italie, a provoqué l'émission d'un nuage d'herbicides toxiques avec des impacts sur les populations et la mort de plusieurs dizaines de milliers d'animaux d'élevage. Cela a conduit l'Europe à mettre en place en 1982 une série de directives afin de prévenir tout risque d'accident majeur sur un site industriel présentant un danger potentiel.

En 1978 et 1980, les naufrages des pétroliers *Amoco Cadiz* et *Tanio* sur les côtes bretonnes ont causé une des pires catastrophes écologiques de l'histoire (**figure 13**). Ces catastrophes vont bousculer l'opinion publique. Face à la fronde des élus bretons et à la colère des écologistes, les pouvoirs publics vont prendre plusieurs mesures de prévention au niveau local (adoption du plan Polmar, mise en place de nouveaux radars et création d'un rail de navigation au large d'Ouessant). Sur le plan législatif, le principe du pollueur-payeur est adopté, et la réforme du Code pénal de 1994 va instituer la responsabilité de la personne morale à côté de la responsabilité personnelle des dirigeants sociaux poursuivis pour des infractions en matière d'environnement.






**Figure 13**. Les dégâts des marées noires occasionnées par les naufrages de bateaux proches des côtes.
(a) Un oiseau mazouté en train d'être secouru.
(b) Nettoyage d'un rocher mazouté après le naufrage du *Tanio* à Ploumanach en 1980.

Au niveau international, l'Agence américaine de protection de l'environnement (US-EPA) est créée en 1970 en réponse aux alertes suscitées par l'utilisation des pesticides au cours des précédentes décennies. L'Organisation mondiale de la santé (OMS/WHO, *World Health Organisation*) commence la publication de la série des « critères d'hygiène de l'environnement », *Environnemental Health Criteria* de l'IPCS (*International Programme on Chemical Safety*).

Ainsi, l'écotoxicologie, par les résultats et connaissances qu'elle produit et diffuse, conduit à une sensibilisation des populations et alimente les débats sociétaux. Dans le même temps, la réglementation internationale est à la base du développement de méthodes et de protocoles robustes et innovants pour l'évaluation de la toxicité des polluants et pour éclairer les politiques publiques et les porteurs d'enjeux. Elle a conduit notamment à l'émergence du concept d'évaluation du risque* environnemental (ERE) des substances chimiques entrant dans la composition de différents produits commercialisés.

## 6.2. ÉCOTOXICOLOGIE ET SENSIBILISATION DE LA SOCIÉTÉ

Depuis Rachel Carson, les écotoxicologues n'ont cessé d'informer et d'alerter sur la contamination des milieux et les risques pour le vivant. Les molécules ou types de contaminants (microplastiques, nanoparticules, etc.) représentent une très forte diversité, résultant du génie inventif des chimistes. Le devenir de ces nouveaux contaminants dans l'environnement et leur écotoxicité doivent pouvoir être évalués. Pour cela, il faut que les méthodes de détection dans les différents compartiments de l'environnement existent et soient suffisamment sensibles.

En premier lieu, la détection d'une substance dans l'environnement conduit à se poser la question d'un possible effet délétère. Pour pouvoir alerter, il faut disposer de données fiables sur différents organismes. Ainsi, entre la première détection et l'alerte de la société, s'écoule le temps de la recherche scientifique, puis de la diffusion de ces données vers la société. Cette première alerte donne souvent lieu à controverse et il faut encore plus étayer les données avant que la perception sociale soit suffisamment forte pour conduire les pouvoirs publics à une prise de décision. Cette dernière concerne souvent la restriction ou l'arrêt de l'usage du produit incriminé. Pendant ces différentes étapes, la contamination continue d'augmenter dans l'environnement. Il faut toujours un certain temps pour que la décision politique se traduise par une diminution effective de la contamination dans le milieu et une atténuation de ses effets délétères

(**figure 14**). Suivant les produits, les effets pourront perdurer sur des décennies même après leur arrêt, comme c'est le cas du chlordécone aux Antilles — insecticide organochloré utilisé durant une vingtaine d'années jusqu'en 1993 pour lutter contre le charançon du bananier.

Ainsi, anticiper et alerter rapidement sont nécessaires pour éviter que l'usage de certains produits entraîne des contaminations irréversibles.

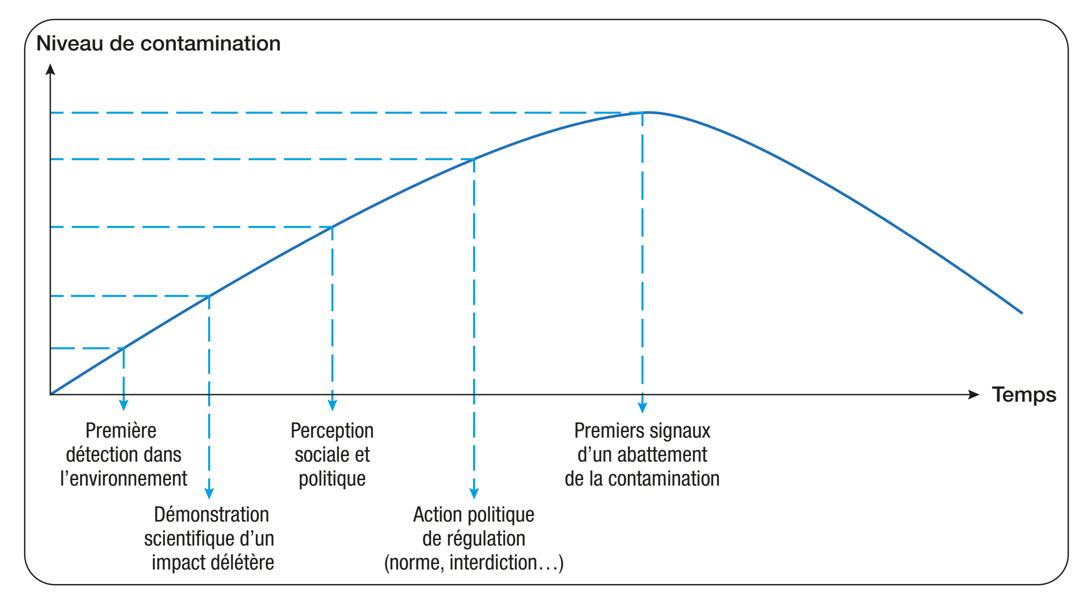



**Figure 14**. Représentation schématique de l'évolution de la contamination d'un milieu en regard des différentes étapes conduisant à la prise de conscience d'une société et à la réaction politique pour agir face à la contamination détectée (d'après Adriano, 2001).

## 6.3. ÉCOTOXICOLOGIE ET ÉVALUATION DES RISQUES

L'évaluation du risque écologique (*Ecological Risk Assessment*, ERA*) représente un des résultats attendus de l'écotoxicologie. Un pan des recherches a un potentiel d'application qui porte sur l'élaboration d'outils d'évaluation du risque environnemental à proposer aux décideurs et autres porteurs d'enjeux environnementaux.

Le risque est une notion intégrative, qui tient compte du fait que le danger* est la toxicité potentielle intrinsèque d'un agent chimique, biologique ou physique, et que le risque est la probabilité d'apparition d'un effet impliquant l'exposition* de l'organisme à cette substance. Le risque est toujours accompagné d'une incertitude, liée d'une part au vivant (ex. vulnérabilité* des organismes ou des écosystèmes), et d'autre part aux méthodes d'évaluation (ex. facteurs d'extrapolation) [**figure 15**].

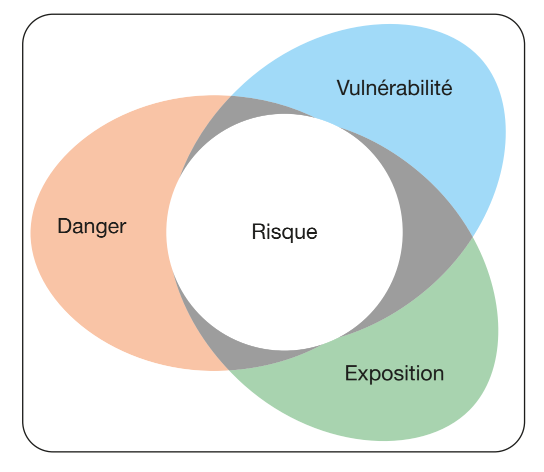



**Figure 15**. Le risque : notion intégrative du danger potentiel des substances, de l'exposition des organismes à ce danger, et de la vulnérabilité des organismes ou des écosystèmes exposés à ce danger.

Avec le développement industriel, et en particulier avec l'avènement de la chimie qui a généré la mise sur le marché de plusieurs centaines de milliers de molécules, le besoin de prévenir et réglementer la pollution et ses effets sur les écosystèmes s'est accru. En Europe et aux États-Unis, des protocoles d'évaluation de la toxicité, conduisant à l'émergence du concept d'ERE, ont été développés. Cette évaluation intervient avant la mise sur le marché des produits chimiques (évaluation *a priori*) et mobilise des études d'écotoxicologie expérimentale, en conditions contrôlées, et/ou prédictive *in silico**. Elle peut également être mise en œuvre après utilisation des composés dans le cadre de démarches de vigilance (évaluation *a posteriori*) et fait appel à l'écotoxicologie rétrospective. Celle-ci est généralement menée *in situ** ou sur des échantillons environnementaux prélevés *in situ* pour être étudiés au laboratoire avec une batterie de tests et d'analyses. Au niveau européen, les évaluations sont conduites par l'Agence européenne des produits chimiques (*European Chemical Agency*, ECHA). Cette autorité est chargée par la Commission européenne de mettre en œuvre les législations sur les produits chimiques en vigueur en Europe (notamment le règlement REACH*, cf. « Pour en savoir plus »), afin de protéger la santé des humains et de l'environnement. En France, l'Agence nationale de sécurité sanitaire, de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) est chargée des missions de veille, d'expertise, de recherche et de production de données de référence sur un large champ couvrant la santé humaine, la santé et le bien-être des animaux ainsi que la santé végétale.

Les approches prédictives reposent sur des essais en conditions contrôlées, qui exposent des modèles biologiques à des contaminants. Les échelles biologiques vont de la cellule (tests *in vitro*) aux organismes entiers et à la communauté* (études en mésocosmes). Elles conduisent au calcul de concentrations prédites dans l'environnement (PEC*) et d'une concentration sans effet toxique (PNEC*), qui sont comparées. Lorsque le rapport PEC/PNEC est supérieur à 1, c'est-à-dire lorsque les concentrations dans l'environnement sont supérieures aux concentrations sans effet, le risque est reconnu inacceptable. À l'inverse un risque < 1 est acceptable.

Une autre approche consiste à utiliser des données disponibles, souvent sous la forme de CE50* (p. ex. celles de la base de données de l'EPA, cf. « Pour en savoir plus ») pour construire une distribution de fréquence des espèces affectées par les contaminants, appelée distribution de la sensibilité* des espèces (SSD*, *Species Sensitivity Distribution*). Dans cette approche, les concentrations inférieures à celle qui induit des effets pour une majorité des espèces sont généralement considérées comme protectrices pour les écosystèmes et sont utilisées en remplacement des PNEC pour évaluer le risque. Cette approche nécessite toutefois de disposer d'informations suffisantes sur la sensibilité des espèces dans des communautés particulières pour générer des probabilités de risque acceptables, qui restent des seuils guides (Sánchez-Bayo *et al.*, 2016).

Les données écotoxicologiques que l'on trouve dans la littérature sont le plus souvent basées sur des tests simples, relativement rapides, peu coûteux et faciles à mettre en œuvre. Pour améliorer l'évaluation des risques pour des niveaux d'organisation biologique élevés, les approches doivent intégrer une complexité biologique croissante, un allongement des durées d'exposition et différents stades de développement. Elles considèrent des organismes autochtones ou implantés sur lesquels sont mesurés un certain nombre de biomarqueurs, qui, combinés entre eux, permettent de construire des indicateurs. Une stratégie à plusieurs niveaux est généralement suivie. Ainsi, l'approche Triade (ISO 19204:2017) se décline en trois approches complémentaires et itératives (Grassi *et al.*, 2022 ; Pucheux *et al.*, 2017). Elle combine l'évaluation du risque chimique sur la base des substances identifiées sur un site, l'évaluation des relations dose-effet de différentes matrices environnementales lors d'essais d'écotoxicité de laboratoire et l'évaluation des effets sur la biodiversité et la qualité écologique des milieux. La validité de la conclusion repose sur le principe du faisceau de

preuves (*Weight of Evidence*). L'approche Triade se déroule selon trois niveaux (appelés *Tier*) auxquels sont associés des outils de complexité croissante. Le *Tier* 1 (première approche de criblage) fait appel à des outils simples et facilement mis en œuvre. Le *Tier* 2, de complexité supérieure, conduit à une réponse plus fine et précise en s'appuyant sur des outils plus complexes comme les effets sublétaux*/chroniques en approche écotoxicologique ou la biodisponibilité des substances en approche chimique. Le *Tier* 3 fait appel aux outils les plus élaborés de chacune des approches.

L'écotoxicologie, au-delà des données qu'elle fournit (le plus souvent des valeurs caractéristiques), vise aujourd'hui à relier les processus affectés par les contaminants aux fonctions écologiques*. Par exemple, les activités enzymatiques mesurées dans les sols, affectées par l'exposition des micro-organismes aux contaminants, jouent un rôle dans la fonction de décomposition de la matière organique, permettant de faire le lien avec les services écosystémiques* de production.

## 6.4. ÉCOTOXICOLOGIE ET PROTECTION DES MILIEUX

La protection des milieux et leur surveillance définissent également des normes de qualité environnementale (NQE*). Ces normes sont à la base de l'évaluation de la qualité chimique des milieux et de leur surveillance imposée par la directive-cadre européenne sur l'eau ou DCE* (directive 2000/60/CE) et la directive relative au traitement des eaux résiduaires urbaines (ERU) n° 91/271/CEE. Outre la qualité chimique des masses d'eau, qui concerne initialement 41 substances auxquelles se sont ajoutées 12 nouvelles substances préoccupantes (directive 2013/39/UE), la DCE fixe des objectifs ambitieux de qualité écologique et renseigne sur l'état de la biodiversité au travers d'indicateurs biologiques. Depuis sa révision en 2013, la DCE prend davantage en considération l'exposition des organismes aquatiques à certains contaminants préoccupants par leur caractère bioaccumulable (voire bioamplifiable), en mesurant les niveaux de concentrations dans les poissons ou invertébrés aquatiques. Des normes de qualité ont également été définies pour ces mesures.

La mise en œuvre concrète de la DCE au niveau national s'appuie sur des suivis de contamination, mais également sur des outils de mesure des effets. Ces objectifs ne peuvent toutefois être pleinement atteints sur la base des outils mis en œuvre aujourd'hui, qui reposent essentiellement sur des indices de qualité biologique construits initialement pour diagnostiquer un niveau d'altération chimique et hydromorphologique général, peu spécifique des impacts toxiques.

D'autres cadres réglementaires (directive nitrates, directive eaux résiduaires urbaines, directive déchets) fixent les objectifs de protection de l'environnement. Ils s'appuient sur des suivis de contamination, mais également sur des outils de mesure des effets. Mais il n'existe pas actuellement de réglementation ou de norme concernant la qualité des sols.

## 6.5. ÉCOTOXICOLOGIE ET NORMALISATION DE MÉTHODES

Pour répondre aux besoins et attentes des acteurs de l'évaluation des risques, les écotoxicologues développent de nombreuses méthodes de mesures (ou biotests) — qui peuvent être standardisées —, des lignes directrices ou des documents guides utilisables dans le cadre réglementaire. Ainsi, la Commission européenne (CE) et l'Organisation de coopération et de développement économique (OCDE) ont mené des programmes de standardisation d'essais pour évaluer le devenir de produits chimiques et leur toxicité. Les outils et méthodologies développés doivent permettre de caractériser les dangers et les sources de pollutions (prévention sur le milieu) ainsi que l'impact sur les milieux récepteurs (qualité des milieux et compréhension du lien pression-impact).

L'OCDE dispose d'un grand nombre de lignes directrices et de documents guides qui permettent d'évaluer les effets potentiels des

produits chimiques sur la santé humaine et sur l'environnement (voir références). Reconnus au niveau international, ces documents sont indispensables aux évaluateurs des substances chimiques dans l'industrie et les agences réglementaires.

La mise sur le marché de nouvelles substances actives, entrant dans la composition de produits de protection des plantes, est conditionnée par une batterie de tests. Ils visent à évaluer leur impact écotoxicologique sur des organismes modèles dont l'abeille, un organisme non-cible patrimonial suscitant l'intérêt de la société et des associations de protection de l'environnement. L'abeille peut être exposée aux pesticides au stade adulte, lorsque les butineuses sont à l'extérieur de la ruche, mais aussi au stade larvaire, par les aliments élaborés par les nourrices. L'estimation du risque pour l'abeille doit donc considérer ces deux stades de développement. Or, il n'existait pas de méthode fiable pour évaluer les effets de ces substances sur le couvain ; la méthode existante était à la fois difficile à mettre en œuvre et peu précise. Pour combler cette lacune, une équipe d'écotoxicologues de l'unité APIS (INRAE du Magneraud), spécialiste des abeilles, a conduit de 2004 à 2007 des travaux visant à proposer une méthode pour mieux évaluer les risques sur couvain, avec des exigences de standardisation, de reproductibilité et de contrôle de l'exposition et de la mortalité. Elle a ainsi développé une technique d'élevage larvaire en laboratoire. Les compétences et le savoir-faire de l'équipe ont conduit à une ligne directrice OCDE (2013) pour ce qui concerne l'exposition aiguë, et à un document guide OCDE (2016) pour l'exposition répétée. Cet exemple souligne le fait que le démarrage d'une recherche et sa valorisation sous la forme d'une méthode standardisée et publiée peut prendre plusieurs années, notamment en raison des différentes étapes de validation de la méthode et de mise en place d'essais interlaboratoires pour juger de ses performances.

L'Organisation internationale de normalisation (ISO) et ses institutions miroirs dans les pays membres (pour la France, l'Association française de normalisation, Afnor) proposent également des méthodes de mesure normalisées sous la forme de normes ou de spécifications techniques. Ces textes sont réexaminés à pas de temps réguliers par les experts (scientifiques et ingénieurs) membres des groupes de travail de l'ISO afin d'inclure les dernières avancées méthodologiques.

Un enjeu majeur des programmes de normalisation est de valoriser les travaux de recherche de pointe en proposant de nouveaux sujets de normalisation. L'objectif est alors de mettre en œuvre les travaux nécessaires au développement de nouvelles normes basées sur des méthodes, dont pourront s'emparer l'ensemble des acteurs concernés, y compris les porteurs d'enjeux. Ces méthodes doivent être validées, partagées et acceptées par une communauté internationale.

Une des difficultés rencontrées par les chercheurs souhaitant s'engager dans la normalisation est la relative lenteur du processus en raison d'une succession d'étapes. À titre d'exemple, la norme ISO 11063 (2012) concernant l'extraction directe de l'ADN des sols a nécessité une dizaine d'années pour être effective, depuis la publication de l'article méthodologique fondateur en 2001. À la demande de l'Ademe, qui à l'époque pilotait le programme « Bioindicateurs », cette méthode et son intérêt pour la caractérisation de la biodiversité des sols ont été présentés à la commission T95E « écotoxicologie terrestre » de l'Afnor. À la suite de la validation de l'intérêt normatif de cette méthode, un essai interlaboratoire a été initié à l'échelle nationale. En parallèle, la méthode a été proposée à l'ISO/TC 190 SC 4/WG 4 *Biological methods* comme un nouveau sujet de normalisation et, après son adoption par l'ISO, validée par un essai interlaboratoire international. En parallèle, une première version de la norme a été présentée à l'ISO. Le texte de la norme a été complété par la synthèse des résultats obtenus lors d'essais interlaboratoires nationaux et internationaux. Cette norme est toujours utilisée et elle a fait l'objet d'une révision pour intégrer des développements permettant son application dans des approches de métagénomique, pour étudier la composition et la diversité des communautés microbiennes des sols (ISO 11063:2020).

Cette norme a été traduite dans de nombreuses langues et est disponible dans les agences miroirs de l'ISO dans ses 21 pays membres. Elle a par ailleurs été validée et publiée par le CEN (Centre européen de normalisation). La publication de cette norme a ouvert la marche à celle de la norme ISO 17601:2017 qui décrit une méthode permettant de quantifier l'abondance de groupes microbiens dans les sols par des essais de PCR quantitative. Récemment, Thiele-Bruhn *et al.* (2020) ont publié une revue des méthodes qui pourraient être développées pour mieux caractériser les micro-organismes des sols et les fonctions écologiques qu'ils soutiennent. Ils y soulignent l'importance du rôle joué par les chercheurs dans ce processus normatif, crucial pour enrichir le catalogue des laboratoires d'analyse de nouvelles méthodes et, ainsi, répondre à la demande des porteurs d'enjeux qui s'intéressent à la description de l'évolution de la composante biologique de la qualité de l'environnement.

## 6.6. ÉCOTOXICOLOGIE ET INNOVATION

Les travaux des écotoxicologues conduisent à des innovations de différentes natures. Ils permettent de développer de nouvelles méthodes de dosage et de mesure des contaminants dans le milieu naturel et de nouveaux indicateurs dont le suivi est assuré par des méthodes qui peuvent faire l'objet de normes ou de brevets potentiellement exploitables par des start-up et des industriels. Ces innovations peuvent être à l'origine de l'évolution des réglementations et causer par ricochet l'évolution du marché des analyses de l'environnement par l'intégration de ces nouvelles méthodologies. Ainsi, en 2017, l'EFSA a publié une opinion scientifique faisant un état de l'art des méthodes disponibles pour évaluer l'impact des pesticides sur les organismes des sols. *In fine*, l'objectif est d'en sélectionner certaines pour améliorer les procédures mobilisées dans l'évaluation du risque des pesticides pour les sols. La publication de cette opinion scientifique a aussi redonné de l'intérêt pour le projet de directive-cadre de protection des sols qui a été proposée en 2006 à la Commission européenne, mais qui n'est toujours pas instaurée. Ces méthodologies pourraient aussi être appliquées dans l'évaluation du risque *a posteriori* des pesticides et dans l'évaluation de la qualité biologique des sols. Si tel était le cas, les innovations issues des travaux des écotoxicologues pourraient être appliquées en routine par des laboratoires d'analyse qui seraient mobilisés pour l'évaluation des risques chimiques et/ou biologiques *a priori* et *a posteriori* sur les organismes des sols.

Devant la multiplicité des substances chimiques à évaluer, la nécessité de limiter le recours à l'expérimentation animale et les développements des méthodes d'évaluation (approches *in silico*, *in vitro*), le constat du besoin de faire évoluer les concepts s'est imposé. La toxicologie s'est orientée vers la caractérisation détaillée des voies de toxicité conduisant à des effets néfastes, direction que suit aujourd'hui l'écotoxicologie. La caractérisation du danger* peut alors se baser non plus sur l'identification d'un effet néfaste observé chez l'animal, mais, à partir de l'étude de ces voies biologiques, sur des modèles expérimentaux *in silico* et *in vitro*. C'est à ces objectifs que répond le concept d'AOP* initialement qualitatif. Actuellement, de nouvelles approches se développent, telles que les AOP quantitatives (qAOP), qui fournissent des prédictions de relations dose-effet associées à des approches de modélisation. De la même façon, les réseaux d'AOP visent à connecter entre eux des AOP individuelles qui partagent un ou plusieurs événements moléculaires déclencheurs et événements clés. Associées à des approches de bio-informatique et/ou de biologie computationnelle, ces nouvelles approches doivent améliorer l'évaluation réglementaire des substances chimiques.

De plus, des outils passifs de suivi des contaminations *in situ,* dans les eaux, les sédiments ou les sols, sont aussi développés dans les laboratoires et ont vocation à être utilisés pour la surveillance de la contamination des milieux. À l'avenir, la miniaturisation et la connexion d'objets technologiques, enregistrant les données de bioindicateurs, embarqués sur des drones évoluant de manière autonome dans les différents

compartiments des écosystèmes, pourraient permettre d'envisager des systèmes de détection en temps quasi réel. Cela amènerait à qualifier l'évolution de la qualité de l'environnement et à envisager pour les écosystèmes un compromis durable entre services et conservation.

Ainsi, un des enjeux de l'écotoxicologie est de comprendre les conséquences de nos usages quotidiens sur l'environnement, de rendre publiques les connaissances et de mettre les informations à disposition de la société. Ces informations doivent être fiables, crédibles, et compréhensibles en matière de vocabulaire par toutes les parties. L'enjeu est de taille, puisqu'il s'agit de développer des signaux d'alerte pour la santé humaine en faisant le lien avec la santé de l'environnement, comme le décrit le concept de l'*Eco-Health* (cf. « Pour en savoir plus »). Un des résultats attendus est de guider nos comportements vers des pratiques plus respectueuses de l'environnement et de la santé en général.

## À RETENIR

L'écotoxicologie a une double vocation : améliorer les connaissances et alerter la société sur les impacts des contaminants sur la santé des écosystèmes et, par extension, sur la santé humaine. Elle fournit ainsi des outils pour estimer le risque, prévoir le devenir des contaminants dans l'environnement et leurs impacts écologiques, en appui aux politiques publiques.



**Faucon crécerelle**.
Les rapaces ont été particulièrement impactés par l'utilisation de pesticides et l'accumulation de ces derniers dans leur graisse. Les faucons crécerelles, qui consomment de petits mammifères et de gros insectes, ont ainsi vu leur population décliner dans les années 1960. Comme la loutre (cf. Introduction), le faucon crécerelle est une espèce dite « parapluie ».

## Références

Adriano D.C., 2001. *Trace elements in terrestrial environments: Biogeochemistry, bioavailability, and risks of metals*, 2de édition, Springer, New York, 867 p. doi.org/10.1007/978-0-387-21510-5.

Grassi G., Lamy I., Pucheux N., Ferrari B. J. D. and Faburé J., 2022. State of the Art of Triad-Based Ecological Risk Assessment: Current Limitations and Needed Implementations in the Case of Soil Diffuse Contamination, *Frontiers in Environmental Science*, 10 (878238), doi.org/10.3389/fenvs.2022.878238.

Hunt E.G.,Bischoff A.I., 1960. Inimical effects on wildlife of periodic DDD applications to Clear Lake. *California Fish and Game*, 46, 91-106.

Lignes directrices OCDE pour les essais de produits chimiques : https://www.oecd.org/fr/env/ess/essais/lignesdirectricesdelocdepourlesessaisdeproduitschimiques.htm (consulté le 18 juin 2022).

Organisation internationale de normalisation (ISO) : https://www.iso.org/fr/home.html (consulté le 18 juin 2022).

Pucheux N., Andres S., Pandard P., 2017. Méthode normalisée triade d'évaluation du risque pour les écosystèmes du sol au travers d'un cas appliqué, in *Rapport scientifique Ineris 2016-2017*, 60-61, https://hal-ineris.archives-ouvertes.fr/ineris-01869672/document (consulté le 18 juin 2022).

Sánchez-Bayo F., Goka K., Hayasaka D., 2016. Contamination of the Aquatic Environment with Neonicotinoids and its Implication for Ecosystems, *Frontiers In Environmental Science*, 4 (71), doi.org/10.3389/fenvs.2016.00071.

Thiele-Bruhn S., Schloter M., Wilke B.-M., Beaudette L.A., Martin-Laurent F., Cheviron N., Mougin C., Römbke J., 2020. Identification of new microbial functional standards for soil quality assessment, *Soil*, 6 (1), 17-34, doi.org/10.5194/soil-6-17-2020.

## Pour en savoir plus

Article sur le règlement européen REACH : https://ecotoxicologie.fr/reglement-europeen-reach (consulté le 18 juin 2022).

Article sur les effets des produits chimiques en usage en Europe (*European chemical agency*, ECHA) : https://echa.europa.eu/fr/view-article/-/journal_content/title/know-more-about-the-effects-of-the-chemicals-we-use-in-europe (consulté le 18 juin 2022).

Base de données de l'EPA : https://www.epa.gov/chemical-research/ecotoxicology-database (consulté le 10 juillet 2022).

Concept *One Health* : https://www.iddri.org/fr/publications-et-evenements/decryptage/de-one-health-ecohealth-cartographie-du-chantier-inacheve-de (consulté le 10 juillet 2022).

# CONCLUSION

## NOUVEAUX DÉFIS ET NOUVELLES OPPORTUNITÉS POUR L'ÉCOTOXICOLOGIE

L'écotoxicologie est une science interdisciplinaire qui s'intéresse au devenir des contaminants dans l'environnement jusqu'à leurs effets sur les organismes et les écosystèmes.

Cette science, dont les enjeux de production de connaissance sont nombreux et variés, œuvre, sur le plan appliqué, à la protection environnementale dans un contexte multi-contaminé. L'élaboration de normes de qualité environnementale et la mise en garde à propos d'effets indésirables ont ainsi permis, dans certains cas, de restaurer la biodiversité menacée par la pollution anthropique. Les exemples les plus connus concernent le déclin des rapaces, attribué à leur exposition* au DDT, qui a pu être enrayé par l'interdiction de l'usage de cet insecticide organochloré, ou encore les épidémies d'imposex (développement d'organes génitaux mâles chez les femelles) chez les mollusques prosobranches marins. Pour ces derniers, la démonstration expérimentale d'une relation causale avec l'exposition au tributylétain a permis l'abolition de l'usage de cette substance dans les peintures antisalissures ou *antifouling* en anglais (appliquées sur les coques de bateaux pour limiter la prolifération de biofilm indésirable sur la carène). Une récupération de la capacité reproductive des populations* naturelles de gastéropodes a été constatée par la suite.

Sur le plan fondamental, les challenges actuels de l'écotoxicologie résident dans l'amélioration de la précocité des signaux analysés, notamment pour des effets sublétaux* et chroniques. Ils bénéficient de l'essor (et de la démocratisation) des approches omiques* et de la capacité de prédiction des approches de modélisation. Ces approches permettent d'intégrer davantage la complexité des contaminants, ainsi que celle des cycles des organismes, de prendre en compte les interactions trophiques et de considérer l'influence des facteurs environnementaux sur les réponses biologiques. Le rapprochement qui est en train de s'opérer avec d'autres disciplines sanitaires (comme l'épidémiologie ou la toxicologie humaine) permettra de mieux connaître, et comprendre, les impacts directs et indirects de la santé des écosystèmes sur la santé humaine.

L'inflexion actuelle vers l'écotoxicologie fonctionnelle tend à prendre en compte davantage l'échelle des communautés* et, au-delà du maintien de leur structure, les perturbations du fonctionnement écologique des écosystèmes soumis à la pression de contaminants. L'évaluation des répercussions directes et indirectes des substances toxiques pour le fonctionnement des communautés et des écosystèmes requiert une amélioration des connaissances écologiques concernant la caractérisation du rôle fonctionnel des organismes dans leur environnement et leurs interactions. La classification des organismes en groupes fonctionnels appropriés ainsi que la mesure directe de processus et fonctions impactés par les contaminants pourraient ainsi permettre de mieux diagnostiquer et prédire les conséquences des contaminations sur les fonctions écologiques* assurées par les milieux anthropisés. Dans cette perspective, la prise en compte des notions de services écosystémiques* dans l'évaluation de l'impact des contaminants sur l'environnement permettrait de faire le lien pragmatique avec les humains et leurs intérêts à long terme.

Dans une optique opérationnelle, l'écotoxicologie est confrontée à l'inventivité humaine, notamment à la production incessante de nouveaux contaminants potentiels par les industriels, à l'émergence de nouveaux types de contaminants (tels que les nanomatériaux) ou de nouvelles formulations, etc. La pollution des écosystèmes peut être limitée, dans une certaine mesure, par les actions humaines. Mais il existe des contaminants qui répondent à des besoins, comme l'utilisation de certains pesticides pour assurer la protection, qualitative et quantitative, des récoltes. L'écotoxicologie doit

donc contribuer à gérer au mieux le compromis nécessaire entre exploitation des ressources par les humains et conservation de l'environnement. Dans le domaine de l'appui aux politiques publiques, les travaux en écotoxicologie répondent au besoin de disposer d'informations suffisamment étayées pour définir un niveau de risque acceptable et conforme au principe de précaution. La prédiction fiable des impacts de substances dans un contexte multi-contaminé et la production d'outils de modélisation permettant de prévoir le devenir des contaminants dans l'environnement ou de prédire l'impact potentiel de nouvelles substances constituent également des pistes de recherche appliquée primordiales pour la protection de la santé des écosystèmes et des humains.

## À RETENIR

Depuis l'alerte donnée par la publication de *Silent Spring*, l'écotoxicologie a permis d'encadrer l'autorisation de mise sur le marché des substances potentiellement toxiques, a contribué à l'interdiction de certaines substances, et à la restauration de la biodiversité. Mais il reste encore beaucoup à faire pour améliorer la précocité des décisions et gagner en capacité de prédiction et en applicabilité des approches écotoxicologiques, l'enjeu étant de gérer le compromis nécessaire entre exploitation des ressources par les humains et conservation des écosystèmes et de la biodiversité.



**Loutres de mer (*Enhydra lutris*) – île de Vancouver (Colombie-Britannique, Canada)**.
Les loutres sont une bonne illustration du concept *One Health* (« une seule santé ») qui associe santé humaine, santé animale et végétale et qualité des milieux de vie.

### *Pour en savoir plus*

Article sur l'évaluation des risques chroniques (Ineris) :
https://www.ineris.fr/fr/risques/comment-evaluer-risque/evaluer-risque-chronique (consulté le 18 juin 2022).

Dossier « L'écotoxicologie fête ses 50 ans ! » (plateforme Échosciences) :
https://www.echosciences-grandest.fr/communautes/environnement/dossiers/l-ecotoxicologie-fete-ses-50-ans (consulté le 18 juin 2022).

Ecotoxicologie.fr, site de vulgarisation sur l'écotoxicologie :
https://ecotoxicologie.fr/ (consulté le 18 juin 2022).

Faburé J., Mougin C., Rivet D., Siaussat D. (éd.), 2022. *Écotoxicologie*, Malakoff, Dunod, 208 p. (coll. Sciences Sup).

Leenhardt S., Mamy L., Pesce S., Sanchez W. (coord.), Achard A.-L., Amichot M., Artigas J. *et al.*, 2022. *Impacts des produits phytopharmaceutiques sur la biodiversité et les services écosystémiques*, Synthèse du rapport d'ESCo, INRAE – Ifremer (France), 124 p., https://www.inrae.fr/actualites/impacts-produits-phytopharmaceutiques-biodiversite-services-ecosystemiques-resultats-lexpertise-scientifique-collective-inrae-ifremer (consulté le 18 juin 2022).

Site d'ECOTOX, le réseau d'écotoxicologie terrestre et aquatique :
https://www6.inrae.fr/ecotox (consulté le 18 juin 2022).

# QUIZ

**1.** Un chercheur a trouvé que l'exposition au pesticide « Insector » entraîne une atrophie des nageoires des poissons. Est-ce :

- ☐ de la toxicologie
- ☐ de l'écotoxicologie

**2.** Un élément bioaccessible est-il biodisponible ?

- ☐ Oui
- ☐ Non

**3.** Quelle est l'étape majeure à considérer pour démontrer l'innocuité d'une substance vis-à-vis de l'environnement ? (plusieurs réponses possibles)

- ☐ Absence d'effet toxique sur des espèces modèles
- ☐ Absence de modification de la biodiversité
- ☐ Absence d'impact sur les générations suivantes

**4.** Quels sont les paramètres principaux qui différencient les tests d'exposition aiguë et chronique ? (plusieurs réponses possibles)

- ☐ Le milieu d'exposition : eau pour l'exposition aiguë et sol pour l'exposition chronique
- ☐ La durée d'exposition
- ☐ Les concentrations de substances testées
- ☐ Les organismes-tests
- ☐ Le type de descripteur de réponse évalué

**5.** Les impacts des contaminants sur l'environnement sont-ils liés à de potentiels effets néfastes sur la santé humaine ?

- ☐ Oui
- ☐ Non

**6.** L'hormèse est un processus qui permet aux organismes de réguler les teneurs en éléments dans leur milieu intérieur.

- ☐ Vrai
- ☐ Faux

**7.** Lorsque plusieurs substances sont en mélange dans l'environnement, les effets sont bien plus importants que les effets additionnés de chaque substance (on parle d'effet cocktail).

- [ ] Vrai
- [ ] Faux

**8.** Pour un organisme donné, une substance A est caractérisée par une CE50 de 50 mg/L et une substance B par une CE50 de 70 mg/L. La substance B est donc la plus impactante pour cet organisme.

- [ ] Vrai
- [ ] Faux

**9.** Les écotoxicologues ne peuvent pas être des lanceurs d'alerte étant donné la façon dont ils abordent les problèmes de pollution dans l'environnement.

- [ ] Vrai
- [ ] Faux

**10.** Dans une approche Triade pour l'évaluation des risques, l'objectif est de trouver le critère qui exprime le plus le risque parmi les critères chimiques, les critères écotoxicologiques ou les critères écologiques.

- [ ] Vrai
- [ ] Faux

**11.** La biodisponibilité d'un contaminant ne peut pas se mesurer directement.

- [ ] Vrai
- [ ] Faux

**12.** Les tests de toxicité au laboratoire apportent plus d'informations que les tests dans le milieu naturel.

- [ ] Vrai
- [ ] Faux

# CORRIGÉ DU QUIZ

**1**. C'est de la toxicologie, une des disciplines fondamentales de l'écotoxicologie (voir chapitre 1).

**2**. Oui, un élément bioaccessible est biodisponible (voir chapitre 4).

**3**. Les trois étapes sont nécessaires pour démontrer une innocuité, même si dans la pratique il est quasiment impossible de démontrer l'innocuité totale d'une substance. Toutefois, pour garantir qu'une substance est non nocive *a priori*, les critères à vérifier sont : absence d'effet toxique sur des espèces modèles à court et à moyen-long terme, absence de modification de la biodiversité structurelle et fonctionnelle, et absence d'impact sur les générations suivantes, exposées ou non à la substance (voir chapitre 2).

**4**. Seule la première n'est pas correcte, car les deux types de tests peuvent se faire quel que soit le milieu. Sinon, ces tests se distinguent bien par la durée d'exposition (relative à la durée de vie des organismes testés), par les concentrations de substances testées (généralement plus nombreuses et plus élevées dans les tests de toxicité aiguë), par les organismes-tests, et par le type de descripteur de réponse évalué (voir chapitres 1 et 2).

**5**. Oui, c'est ce que théorise le concept du *One Health* (« une seule santé ») qui associe santé humaine, santé animale et végétale et qualité des milieux de vie (voir chapitre 1).

**6**. Faux. C'est l'homéostasie qui concerne les régulations internes des organismes. L'hormèse est un processus décrivant l'effet « bénéfique » d'une substance toxique parfois observé à de faibles concentrations (voir chapitre 2).

**7**. Vrai et Faux. Ces effets peuvent aussi être antagonistes ou simplement additifs, pas forcément synergiques (voir chapitre 2).

**8**. Faux, c'est la substance A, car on atteint la CE50 plus rapidement, dès 50 mg/L, par rapport à la substance B (voir chapitre 1).

**9**. Faux. Ils apportent des preuves scientifiques ou des faisceaux de preuves permettant d'étayer des affirmations et donc de pouvoir lancer des alertes (voir chapitre 6).

**10**. Faux, une approche Triade comprend bien les trois piliers chimie, écotoxicologie et écologie, mais il s'agit de recueillir des faisceaux de preuves apportées par ces trois piliers complémentaires, partant du principe que, pris individuellement, ils ne peuvent pas forcément être vraiment indicateurs du risque (voir chapitres 1 et 6).

**11**. Vrai. La biodisponibilité est un concept qui peut être décrit sur la base de trois variables interdépendantes qui, elles, peuvent être approchées *via* différentes mesures : la disponibilité, la biodisponibilité environnementale et la biodisponibilité toxicologique (voir chapitre 3).

**12**. Vrai et faux. Les tests *ex situ* ou *in situ* sont complémentaires, car ils n'apportent pas les mêmes informations. Au laboratoire, les conditions peuvent être contrôlées, permettant de vérifier des hypothèses et d'établir des relations de cause à effet, tandis qu'en conditions naturelles on peut tester directement la toxicité des milieux, et travailler sur les relations entre exposition et impact (voir chapitre 4).

# GLOSSAIRE

## A

**Anthropocène** : ce terme a été proposé pour définir une nouvelle ère géologique où la pression humaine serait devenue le principal moteur de l'évolution de la lithosphère. Cette notion est encore en discussion dans le milieu scientifique.

**AOP** (*Adverse Outcome Pathway*) : schéma conceptuel destiné à organiser, synthétiser et présenter la connaissance scientifique relative au lien entre, d'une part, la perturbation d'une cible biologique particulière par un agent de stress (substance chimique, radiation, autre…) et, d'autre part, une conséquence néfaste (*adverse outcome*) qui soit pertinente et interprétable pour l'évaluation du risque, la prise de décision réglementaire ou encore la gestion environnementale. L'objectif des AOP est d'organiser la connaissance, actuellement dispersée dans des publications scientifiques, rapports et autres bases de données, afin de faciliter son utilisation.

## B

**Bioaccessible, bioaccessibilité** : capacité d'un élément ou d'une molécule à être solubilisé par des liquides physiologiques pour être absorbé par la voie digestive. Pour les humains, le terme de bioaccessibilité orale, souvent utilisé, précise la voie d'exposition.

**Bioaccumulation** : processus d'accumulation au sein d'un organisme par absorption de substances issues de son milieu (nutriments, substances et éléments polluants ou non polluants). Les modes d'absorption varient selon les organismes et leur mode de vie : voies cutanée, respiratoire, digestive, racinaire, foliaire, etc. Il y a bioaccumulation quand le taux d'absorption d'un élément ou d'une substance par un organisme est supérieur à son taux d'élimination. La bioaccumulation peut se réaliser directement par bioconcentration ou indirectement par bioamplification. La bioaccumulation d'une substance peut se mesurer par le facteur de concentration (concentration interne à l'organisme rapportée à la concentration mesurée dans l'environnement de celui-ci).

**Bioamplification** : condition selon laquelle la concentration d'un élément ou d'une substance est plus élevée au sein d'un organisme que dans sa ressource alimentaire. À plus large échelle, c'est l'augmentation de concentration d'un élément ou d'une substance avec l'augmentation du niveau que représente un organisme au sein du réseau trophique (voir définition) auquel il participe. À ne pas confondre avec la bioconcentration, qui est la condition selon laquelle la concentration d'un élément ou d'une substance est plus élevée au sein d'un organisme que dans son milieu. Sont particulièrement concernés en milieu aquatique les organismes filtreurs tels que les moules.

**Biodisponible, biodisponibilité** : capacité d'un élément ou d'une molécule à pénétrer dans un organisme. Elle correspond à la fraction de la quantité totale de cet élément ou de cette molécule présent(e) dans le biotope qui peut être absorbée par un organisme. Elle est alors éventuellement stockée, transférée, ou métabolisée par cet organisme. La biodisponibilité d'une molécule n'est pas une propriété fixée, elle peut en effet être modulée par différents facteurs environnementaux et biologiques et dépend donc de l'écosystème où se situe la molécule. La norme NF-ISO 17402 décrit la biodisponibilité à partir de trois concepts : la disponibilité, qui correspond à « l'offre » du milieu ; la biodisponibilité environnementale, qui correspond à la prise en charge de la substance par un organisme ; et la biodisponibilité toxicologique, qui correspond à l'effet induit par l'exposition de l'organisme à la substance.

## C

**CLx** (CL50) : concentration létale moyenne d'une substance (ou d'un mélange de substances) pour x % de la population exposée (ex. 50 %). Attention : elle est le plus souvent estimée en conditions expérimentales à partir d'un lot d'individus qui représente bien une population au sens statistique du terme, mais pas au sens écologique. La CL50 est la valeur la plus couramment rapportée dans les études toxicologiques.

**CEx** (CE50) : concentration d'effet (ou efficace) moyenne d'une substance (ou d'un mélange de substances) responsable d'une modification de x % (ex. 50 %) d'un trait mesuré sur les organismes exposés (hormis survie). Le sens de l'effet peut être négatif (inhibition, réduction, ralentissement) ou positif (activation, augmentation, accroissement), mais l'interprétation biologique dépend évidemment de la signification du trait biologique mesuré, dont le choix par l'expérimentateur est donc un élément critique. Par exemple, l'activation d'une même voie toxicologique de réponse peut impliquer à la fois la surexpression (de l'ordre de x %) de certains gènes et la répression d'autres gènes (de l'ordre de y %). De même, l'allongement du temps de développement d'un organisme exposé est une valeur mathématiquement positive (le temps augmente), mais l'effet est plutôt considéré comme négatif, car associé à un défaut de performance développementale.

**Communauté biologique** : groupe ou assemblage de populations d'espèces différentes qui partagent un même biotope et dont les interactions sont l'objet d'étude de l'écologie des communautés ou synécologie.

## D

**Danger** : potentielle toxicité d'un contaminant qui se mesure à l'aide de tests en toxicologie. Il ne faut pas confondre danger et risque : il y a danger quand on peut détecter une substance dans l'environnement par exemple, mais il n'y aura pas de risque si aucun organisme n'y est exposé.

**DCE** : directive-cadre sur l'eau (2000/60/EC), cadre réglementaire européen établissant une politique commune pour la gestion, la protection et l'amélioration de la qualité des eaux de surface, souterraines, de transition (estuaires) et côtières.

**DGT** (*Diffusive Gradient in Thin film*) : gradient de diffusion en couche mince. Méthode d'échantillonnage passif des contaminants dans l'eau. La quantité d'éléments ou de composés accumulée sur le dispositif est proportionnelle à leur concentration et au temps de séjour du capteur dans l'eau. Le dispositif sert également à suivre les flux d'éléments dans les sols, il est alors utilisé sur un substrat sous forme de pâte, riche en eau.

**Disponible, disponibilité** : fraction de la teneur totale d'un contaminant ou d'une molécule qui se présente sous une forme chimique susceptible d'être assimilée par un organisme, dans un compartiment de l'environnement.

## E

**Effet cocktail** : effet résultant d'une exposition à plusieurs contaminants. La présence simultanée de substances, lesquelles produisent individuellement peu (ou pas) d'effet, se traduit par un impact toxique.

**Effet pléiotropique** : en biologie, la pléiotropie désigne, à l'origine, la faculté d'un gène à déterminer plusieurs caractères phénotypiques. En pharmacologie, la pléiotropie traduit, pour une substance médicamenteuse, l'ensemble des effets autres que celui pour lequel cette substance a été développée. Ce terme est souvent utilisé pour désigner des effets additionnels bénéfiques, mais il peut aussi indiquer des effets néfastes.

**Eléments traces** (ou en traces) : désignent les éléments dont la teneur est inférieure à 0,1 % dans la croûte terrestre, par opposition aux éléments majeurs (Ca, K, Mg, P, Si, Al, Fe). Les éléments traces présents dans les sols peuvent être des métaux (Cd, Cu, Cr, Pb), des métalloïdes (As) ou des non-métaux (F, Cl, Br).

**ERA (***Ecological Risk Assessment***)** : évaluation du risque écologique, c'est-à-dire du risque que font peser les polluants sur les organismes, les populations, les communautés et les écosystèmes. Le terme est parfois confondu (notamment au niveau européen) avec *Environmental Risk Assessment* qui, à l'origine, traduit le risque pour la santé humaine dû aux contaminants présents dans l'environnement. L'ERA peut être réalisée *a priori* (elle est requise pour toute autorisation de mise sur le marché d'une nouvelle substance), mais également *a posteriori* sur le terrain, pour des substances déjà utilisées, par exemple dans une démarche complémentaire à l'approche *a priori* (suivi post-homologation), ou en raison de l'évolution des connaissances sur la toxicité de certaines substances depuis leur homologation.

**Exposition** : mise en contact d'un polluant avec un organisme ou plusieurs organismes, et par extension, d'une population, d'une communauté, d'un écosystème.

**Exposome** : concept holistique qui représente la totalité des expositions auxquelles un individu est soumis, de la conception à la mort. C'est une représentation complexe et dynamique des expositions, intégrant l'environnement chimique, microbiologique, physique, et le mode de vie des individus. Pour les humains, cela comprend le style de vie, l'alimentation, le travail, les périodes récréatives, la santé (prise de médicaments, infections)… Le concept d'éco-exposome a été proposé en 2012 par le NRC (*National Research Council*) et traduit « l'extension de la science de l'exposition depuis le point de contact entre un stresseur et un récepteur, aussi bien de façon interne à l'organisme que de façon externe, au niveau de l'ensemble de l'environnement, y compris l'écosphère » [traduction de l'auteur]. Ce concept englobe donc des marqueurs d'exposition internes et externes à l'organisme. Une nouvelle définition de l'éco-exposome récemment proposée transpose la définition de l'exposome humain à tout organisme considéré comme « écologiquement pertinent » (Scholz *et al.*, 2022, cf. « Pour en savoir plus », chap. 2).

***Ex situ*** : signifie « hors site ». Se dit d'une expérimentation qui s'effectue sur un matériau enlevé de son lieu d'origine.

## F

**Fonction écologique** : activité ou processus biologique impliqué dans le fonctionnement et le maintien des écosystèmes (flux biogéochimiques, énergétiques, support de productivité, résilience), et assuré par une espèce ou un groupe d'espèces (groupe fonctionnel).

**Fond pédogéochimique** : après différents processus de pédogénèse, le sol contient naturellement des éléments en traces à des teneurs variables suivant le type de roche-mère qui lui a donné naissance. Hors contamination, ces teneurs en éléments traces constituent un « bruit de fond » appelé « fond pédogéochimique ».

## G

**Génotype** : ensemble des caractères héréditaires d'un individu. Si on s'intéresse à la partie codante de l'ADN, le génotype représente la combinaison d'allèles (variants génétiques) portés par un individu au niveau d'un gène ou

de l'ensemble de ses gènes. Le génotype peut aussi définir la composition allélique d'un individu à un ou plusieurs loci ou régions de son génome.

**Granule** : organe spécialisé associé à la paroi de l'intestin chez les annélides. Il sert de stockage après la digestion. Les granules sont également appelés chloragosomes, car ils appartiennent aux cellules spécialisées nommées chloragocytes du tissu chloragogène de l'épithélium cœlomique.

## H

**Homéostasie** : ensemble des processus physiologiques coordonnés qui régulent et maintiennent la stabilité des paramètres du milieu intérieur (ensemble des liquides) d'un organisme. Dans un sens élargi, l'homéostasie représente la capacité d'un système à maintenir son équilibre face aux perturbations (robustesse), et s'applique notamment aux écosystèmes.

**Hormèse** : phénomène selon lequel certaines substances, toxiques à forte dose, ont un effet bénéfique à faible dose, sans avoir de fonction physiologique connue. Ce phénomène biphasique se traduit par une relation « concentration-réponse » non monotone. Selon certains auteurs, l'hormèse est un concept toxicologique véritablement fondamental, qui concurrence le concept traditionnel de dose-réponse monotone, en particulier parce qu'il reflète mieux la réponse adaptative et compensatoire après perturbation de l'homéostasie.

## I

***In natura*** : expression signifiant dans la nature, dans le milieu naturel.

***In situ*** : en biologie, ce terme signifie « dans le milieu naturel d'une molécule, cellule, organisme ou population biologique ».

***In silico*** : « par ordinateur », ce terme signifie que des approches théoriques sont faites par calcul avec des logiciels.

## L

**Lessivage/lixiviation** : ces deux termes désignent, en pédologie, un transfert dans le profil du sol, mais le lessivage est utilisé pour des transferts de particules solides non solubles (comme les argiles des sols, particules inférieures à 2 µm) alors que le terme lixiviation s'emploie pour différencier les transferts d'éléments solubles, entraînés par l'infiltration des eaux.

**LOEC (***Lowest Observed Effect Concentration***)** : concentration la plus faible parmi les concentrations testées (par un expérimentateur) pour laquelle un effet est observé (différence statistiquement significative vis-à-vis de la condition témoin).

## M

**Métabolisation** : transformation biochimique d'une substance au sein d'un organisme, allant jusqu'à la formation de molécules simples (de petites tailles ou monomères).

**Monotone / Relation concentration-réponse monotone vs non monotone** : dans une relation concentration-réponse monotone, la valeur de la réponse (ou de l'effet) varie, selon le même sens (croissant ou décroissant), avec la concentration. Dans une relation non monotone, comme dans le cas de l'hormèse, cette relation est biphasique, et certains paramètres basés sur la dose-réponse traditionnelle, tels que la PNEC, sont à interpréter avec précaution.

## N

**NOEC (*No Observed Effect Concentration*)** : concentration la plus élevée d'une substance pour laquelle aucun effet n'a été observé par l'expérimentateur. C'est la concentration testée située juste en dessous de la LOEC.

**NQE** (Normes de qualité environnementale) : une NQE est définie dans la directive-cadre sur l'eau (DCE) comme la « concentration d'un polluant ou d'un groupe de polluants dans l'eau, les sédiments ou le biote qui ne doit pas être dépassée, afin de protéger la santé humaine et l'environnement ».

## O

**Omiques** : ensemble des technologies permettant l'analyse de la composition moléculaire du vivant (génomique, transcriptomique, protéomique, métabolomique, lipidomique, épigénomique). Ces méthodes peuvent aussi s'appliquer à des matrices non biologiques, notamment l'eau, lorsque l'on s'intéresse aux composés organiques qui y sont présents. On parle alors de méta-omiques, car les composés étudiés peuvent provenir de différents organismes et de différentes espèces.

## P

**PEC (*Predicted Environmental Concentration*)** : concentration prédite d'un élément ou d'un composé dans l'environnement. Elle est calculée sur la base de divers paramètres d'usage (tonnage et utilisation) et de propriétés de la substance (propriétés physico-chimiques, biodégradabilité…).

**Phénotype** : expression des gènes d'un individu, c'est-à-dire de son génotype. Le phénotype peut faire référence à un trait particulier, comme un trait morphologique (ex. couleur des yeux), ou à l'ensemble des traits qui déterminent l'organisme vivant, et résulte alors de son génotype global et de l'interaction de celui-ci avec l'environnement. L'ensemble des phénotypes qu'un même génotype peut ou pourrait produire en fonction de son environnement (p. ex. selon un gradient de température) permet de définir une norme de réaction. Celle-ci correspond à la gamme des phénotypes produits par un même génotype dans des conditions environnementales différentes.

**Plasticité** : concerne l'amplitude de variation des traits d'un organisme ou d'une population dans des conditions différentes, par exemple : conditions contaminées et non contaminées.

**PNEC (*Predicted No Effect Concentration*)** : concentration seuil d'un polluant pour laquelle et en dessous de laquelle aucun effet environnemental n'est attendu. La PNEC est dérivée de résultats issus des biotests les plus sensibles (pour une PNEC au niveau écosystémique, ce sera la valeur pour le niveau trophique qui s'avère le plus sensible) et en appliquant un facteur de sécurité approprié, c'est-à-dire qui tient compte de la variation des données (intra- et inter-laboratoires), de la variance biologique, d'extrapolations du court terme vers le long terme et d'extrapolations du laboratoire vers le terrain. C'est une valeur qui dépend de façon critique du degré de précision des données disponibles : moins elles sont précises, plus le facteur de sécurité doit être élevé (voir Backhaus et Faust, 2012, cf. « Pour en savoir plus », chap. 2).

**POCIS** (*Polar Organic Chemical Integrative Sampler*) : méthode d'échantillonnage passif des molécules organiques polaires dans l'eau. La quantité accumulée sur le dispositif est proportionnelle à leur concentration et au temps de séjour du capteur dans l'eau.

**Population biologique** : groupe d'individus d'une même espèce occupant simultanément un même site, et dont la régulation et l'évolution forment les objets centraux de l'écologie des populations ou démécologie, de la génétique des populations et de la biologie évolutive.

## R

**REACH** : REACH est l'acronyme de *Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals*, soit « enregistrement, évaluation et autorisation des substances chimiques ». REACH est un règlement de l'Union européenne (entré en vigueur le 1er juin 2007) adopté pour mieux protéger la santé humaine et l'environnement contre les risques liés aux substances chimiques, tout en favorisant la compétitivité de l'industrie chimique de l'UE. Il promeut également des méthodes alternatives pour l'évaluation des dangers des substances afin de réduire le nombre d'essais sur les animaux.

**Rémanence** : se dit lorsqu'il y a persistance d'une substance, d'une réponse, d'un phénomène, de façon partielle ou non, même après disparition de la cause.

**Réseau trophique** : ensemble des interactions d'ordre alimentaire entre les différents êtres vivants d'un écosystème. Un réseau trophique est représenté graphiquement par des relations de type « qui mange qui » au sein d'une communauté. Le statut trophique des organismes au sein d'un réseau est généralement défini de façon ascendante, avec, à la base, les producteurs primaires, qui peuvent synthétiser leurs propres composés organiques à partir de la matière minérale (végétaux, cyanobactéries, bactéries sulfureuses), puis les consommateurs primaires (organismes herbivores), et enfin les consommateurs secondaires (organismes carnivores). Parmi ces derniers on peut distinguer les prédateurs d'herbivores et les prédateurs de prédateurs (ou top-prédateurs). L'étude des réseaux trophiques vise à comprendre les flux d'énergie au sein d'un écosystème et les relations entre biodiversité et fonctionnement écosystémique, ainsi qu'à répondre à des questions plus finalisées, telles que le succès d'une invasion biologique ou le transfert de polluants à l'échelle de l'écosystème (voir définition de la bioamplification).

**Risque** : la notion de risque implique la cooccurrence de l'existence d'un danger et de l'exposition à ce danger. Ainsi, une substance dangereuse ne présente un risque pour une cible donnée que si cette cible y est exposée, la cible pouvant être l'espèce humaine, une autre espèce, une communauté, un écosystème… Le GIEC (Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat) propose une version élargie du risque en le définissant à la croisée des aléas, de l'exposition et de la vulnérabilité.

## S

**SAR/QSAR** : les modèles relation structure-activité (SAR) et relation quantitative structure-activité (QSAR) — désignés collectivement par le sigle (Q)SAR — sont des modèles mathématiques permettant de prédire les propriétés physico-chimiques, biologiques et de comportement dans l'environnement de substances à partir des connaissances de leur structure chimique. Ces modèles sont en libre accès sur internet, certains existant sous forme de logiciels commerciaux.

**Sensibilité** : se dit d'un organisme capable de percevoir et de répondre à différents *stimuli* ou stress, plus ou moins importants.

**Service écosystémique** : bénéfice direct ou indirect tiré par les humains de processus biologiques réalisés par les composantes de l'écosystème (voir fonctions écologiques). Il existe quatre grandes catégories de services écosystémiques assurés par la biodiversité :

- services de support ou de soutien (procurant les conditions de base au développement de la vie sur Terre) ;
- services d'approvisionnement ou de production (produits tangibles et potentiellement commercialisables) ;
- services de régulation (modulant ou régulant les phénomènes naturels) ;
- services socioculturels (bénéfices non matériels pour l'humanité).

**Spéciation** : ensemble des différentes formes chimiques sous lesquelles se trouve un contaminant dans l'environnement. Lorsqu'on connaît la spéciation d'un contaminant, on peut répartir sa teneur totale entre ses différentes espèces chimiques : lié à des composés organiques ou inorganiques, sous forme adsorbé sur des phases solides, ou en solution sous forme de complexes. Déterminer la spéciation d'un contaminant, c'est chercher sous quelles formes il se trouve dans un environnement donné. Il n'existe pas de méthode expérimentale directe pour connaître la spéciation d'un contaminant, sauf pour les éléments en traces *via* une quantification de l'ion libre en solution avec des électrodes spécifiques, valable uniquement pour quelques éléments (Cu, Pb, F p. ex.). Des expérimentations indirectes permettent d'approcher les différentes formes (extractions ou techniques de séparation physique ou chimique p. ex.), on parlera alors de spéciation opérationnelle (liée à la technique utilisée). Enfin, on peut effectuer une spéciation théorique par modélisation en utilisant les lois d'équilibre de la thermodynamique et en faisant des hypothèses sur l'existence des différentes formes possibles de l'élément associées à la connaissance des autres constituants du milieu. Il existe de nombreux logiciels, y compris en accès libre, adaptés au calcul de la spéciation des éléments en traces.

**SSD** (*Species Sensitivity Distribution*) : la modélisation liée à la distribution de sensibilité des espèces est basée sur le fait qu'aucun organisme ne répond de la même façon à l'exposition à une substance donnée. Sans cette différence, toutes les espèces seraient impactées de la même façon, par exemple tuées, pour une concentration donnée. Or ce n'est pas ce que l'on observe, certaines espèces étant plus sensibles que d'autres. Cette différence est alors exploitée pour mettre en évidence un seuil lié à l'espèce la plus sensible d'un écosystème donné. Chaque point d'une courbe SSD correspond à une espèce dont la sensibilité a été déterminée en conditions contrôlées au laboratoire.

**Sublétal** : effet néfaste mais non létal.

## T

**Test des comètes** : technique permettant la mesure du degré de dommage à l'ADN au sein d'une population cellulaire. Brièvement, il s'agit, après exposition, de lyser les cellules eucaryotes et de faire passer l'ADN dénaturé dans une courte électrophorèse en procédant à un marquage. L'ADN d'une cellule intacte apparaît comme une sphère, tandis que l'ADN d'une cellule lésée s'étire progressivement (d'où le nom de comète) au cours de l'électrophorèse, proportionnellement au nombre de cassures.

**Test YES** (*Yeast Estrogen Screen*) : c'est un test de laboratoire dont le principe est de mettre en évidence la présence de substances provoquant des effets d'activation ou d'inhibition du récepteur humain des œstrogènes en utilisant des cellules de levure de boulanger (*Saccharomyces cerevisiae*) génétiquement modifiées. Des effets androgéniques ou anti-androgéniques peuvent également être mis en évidence avec un test suivant le même principe : le test YAS (*Yeast Androgen Screen*).

**Toxicité aiguë** : toxicité provoquée par une exposition unique ou brève à une concentration élevée. Elle se mesure souvent en termes de mortalité (voir aussi CLx).

**Toxicité chronique** : toxicité produite par une exposition continue ou répétée sur un temps long. Ce temps d'exposition se définit en rapport au temps de génération de l'organisme (de quelques jours pour des micro-organismes jusqu'à quelques années pour certains vertébrés). Elle n'est pas létale à court terme, et se rapporte pour un composé ou mélange donné à la notion de concentration effective (CEx).

**Traits** : les traits biologiques et écologiques représentent l'ensemble des caractéristiques des espèces ainsi que leurs relations avec l'environnement. On parle de « traits de vie » d'une espèce ou d'une communauté d'espèces pour désigner des descripteurs biologiques et comportementaux quantitatifs comme la respiration, la croissance, la reproduction, ou encore pour désigner des descripteurs écologiques comme les préférences de milieu de vie concernant le pH, la température, etc. (voir Archaimbault *et al.*, 2010, cf. « Pour en savoir plus », chap. 2).

**Trichomes** : structures à la surface des organes aériens végétaux (feuilles, tiges), en forme de poil, qui accumulent les métaux, les radionucléides et certaines molécules organiques.




**Vulnérabilité** : se dit d'un organisme pour lequel les facteurs environnementaux laissent une empreinte plus ou moins durable en raison de son incapacité à répondre. Un des facteurs de vulnérabilité d'une espèce est la perte de son territoire à la suite d'une anthropisation, ou encore la contamination de son milieu de vie.




**Xénobiotique** : substance présente dans un organisme ou dans son environnement mais qui lui est étrangère. Les pesticides de synthèse sont un bon exemple de xénobiotique car leur présence dans l'environnement n'est pas naturelle. Au contraire, le cuivre, élément essentiel, est naturellement présent dans l'environnement, ce n'est donc pas *sensu stricto* un xénobiotique, même s'il devient toxique à partir d'une certaine concentration.

# CRÉDITS ICONOGRAPHIQUES

**Photo de couverture** : Laurence Denaix.
**Photo p. 5** : Laurence Denaix – Naturagency.
**Photo p. 12** : Maud Graillot-Denaix – Naturagency.
**Photo p. 24** : Laurence Denaix – Naturagency.
**Photos p. 29, figure 8a** : Sylvia Moreira – INRAE ; **8b** : Marie Lebeau – INRAE ;
**8c** : Olivier Hullot – INRAE.
**Photo p. 34** : Michel Coste – INRAE/PLACAMAT.
**Images p. 36, figure 9** : PIXABAY, https://pixabay.com/fr/illustrations/.
**Photo p. 41** : Hervé Graillot – Naturagency.
**Photo p. 46, figure 12** : Hervé Graillot – Naturagency.
**Photo p. 47** : Corentin Graillot-Denaix – Naturagency.
**Photos p. 49, figure 13a et b** : Roger Le Doaré.
**Photo p. 55** : Hervé Graillot – Naturagency.
**Photo p. 59** : Hervé Graillot – Naturagency.
**Tous les schémas sans mention de source sont des auteurs.**

Coordination éditoriale : Valérie Mary
Édition : Annie Bauer
Création maquette : Paul Mounier-Piron
Mise en page et couverture : Paul Mounier-Piron

## L'ouvrage

Dans un contexte où on sait de mieux en mieux détecter et quantifier les contaminants et mettre en évidence leurs effets sur les organismes, quel peut être aujourd'hui l'apport de l'écotoxicologie ? Une meilleure connaissance des problèmes liés aux contaminants, pouvant conduire à des mesures surprotectrices ? Ou une meilleure appréhension des mécanismes et processus en jeu pour mieux gérer l'écotoxicité des substances dans le milieu ?
Cet ouvrage aborde les grandes approches actuelles en écotoxicologie par le biais de questions ouvertes que peuvent se poser les lecteurs curieux de mieux connaître cette discipline ou, plus généralement, soucieux des problématiques environnementales. Les réponses à ces questions offrent un panorama des grandes notions de l'écotoxicologie, des principaux concepts associés et expliquent les ruptures ayant transformé les approches traditionnelles de cette science en une démarche plus holistique intégrant la complexité des conditions réelles. Enfin, s'intéresser aux processus et mécanismes écotoxicologiques permet de traiter les relations causales entre présence et écotoxicité des contaminants, aussi bien en milieu terrestre qu'aquatique.
La poursuite des progrès de la science écotoxicologique représente aujourd'hui un enjeu majeur pour rendre compte des relations entre santé et environnement (concept d'*Eco-Health*).

## Les auteurs

**Isabelle Lamy** est chercheure à INRAE (UMR ECOSYS). Chimiste de formation, elle s'intéresse à la spéciation des contaminants en relation avec leur biodisponibilité pour les organismes du sol.

**Juliette Faburé**, enseignante à AgroParisTech et chercheure INRAE (UMR ECOSYS), est écotoxicologue. Elle s'intéresse aux bioindicateurs et biomarqueurs d'exposition et d'effets des contaminants sur les invertébrés du sol à l'échelle individuelle.

**Christian Mougin** est docteur en biologie et chercheur à INRAE (UMR ECOSYS). Il travaille sur la biochimie du sol et les effets des contaminants sur les (micro)organismes du sol. Il est membre correspondant de l'Académie d'Agriculture de France.

**Soizic Morin** est chercheure à INRAE (UR EABX). Écotoxicologue de formation, elle étudie les impacts structurels et fonctionnels des contaminants sur les végétaux microscopiques aquatiques.

**Marie-Agnès Coutellec** est chercheure à INRAE (UMR DECOD). Généticienne des populations, elle mène des recherches sur les effets populationnels et évolutifs des contaminants en milieu aquatique.

**Laurence Denaix** est chercheure à INRAE (UMR ISPA). Ingénieure agronome, elle s'intéresse à la biodisponibilité des éléments en traces et à leur spéciation dans la solution du sol pour modéliser les flux vers la racine des plantes.

**Fabrice Martin-Laurent** est microbiologiste et chercheur à INRAE (UMR Agroécologie). Il évalue l'impact écotoxicologique des contaminants sur les communautés microbiennes des sols notamment leur adaptation à la biodégradation accélérée des pesticides et antibiotiques.



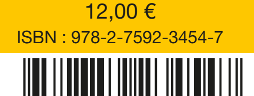


Éditions Cirad, Ifremer, INRAE
www.quae.com






12,00 €
ISBN : 978-2-7592-3454-7



ISSN : 2779-5012
Réf. : 02845